Zentralblatt
für
kteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten
Begründet von Oskar Uhlworm
Zweite Abteilung:
gemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie
d Mykologie (einschliesslich Gärungsphysiologie und Enzymologie),
otozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz sowie Tier-
krankheiten (ausschliesslich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)
Herausgegeben von
Oberregierungsrat Dr. C. Stapp
Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19
Verlag von Gustav Fischer in Jena

100. Band — Jena, 6. März 1939 — Nr. 1/3

Das Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Zweite Abteilung, bringt Originalarbeiten, Sammel- und Einzel-Referate aus dem Gesamtgebiet der Mikrobiologie mit Ausnahme der in das alleinige Gebiet der Human- und Veterinärmedizin gehörenden Veröffentlichungen (vgl. hierzu die genauen Angaben auf der ersten Umschlagseite).

Das Zentralblatt erscheint in Einzelheften, jeder Band 26 Nummern umfassend, in zwangloser Folge. Im Jahre 1939 werden etwa 2 Bände ausgegeben, deren Gesamtladenpreis RM 60.— nicht überschreiten wird.

Die Herren Verfasser werden gebeten, die Manuskripte nur einseitig beschrieben und in deutlich lesbarer Schrift (wenn irgend möglich in Schreibmaschinenschrift mit mindestens 3 cm breitem Rand) und unbedingt druckfertig einzuliefern. Auf kürzeste Fassung des Textes ist besonders zu achten und an Abbildungen und Tabellen nur das wirklich Notwendige zu bringen.

Am Schluß jeder Arbeit wird eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse gefordert.

Alle für das Zentralblatt bestimmten Manuskripte (Originalarbeiten und Referate) sind direkt an den Herausgeber (Anschrift siehe auf der ersten Umschlagseite) zu senden, der allein über ihre Annahme entscheidet. Dagegen wird gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Schriftleitung, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

Originalabhandlungen.

Referate.

Fortsetzung auf Seite 3 des Umschlags

Fortsetzung von Seite 2 des Umschlags

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Bestimmungstabellen der Vorratsschädlinge und des Hausungeziefers Mitteleuropas

Von

Dr. Herbert Weidner

Hamburgisches Zoologisches Museum und Institut

Mit 171 Abbildungen im Text

XVI, 144 S. gr. 8° 1937 RM 6.50, geb. 7.70

Inhalt: Einleitung. / **Bestimmungstabellen:** 1. Säugetiere. 2. Schnecken. 3. Gliederfüßer: Asseln. Tausendfüßer. Insekten. Spinnentiere. / Anhang: Bestimmungstabelle für die von Insekten herrührenden Beschädigungen des Holzes. / Verzeichnis der wissenschaftlichen und der deutschen Namen. / Verzeichnis der geschädigten Stoffe und der Fundplätze.

Dieses Buch ist aus der Praxis entstanden und soll der Praxis dienen. Als Bestimmungsmerkmale wurden daher, wo es immer nur möglich war, solche gewählt, die auch von einem zoologischen Laien leicht aufgefunden und erkannt werden können. Tabellen, die ein Kammerjäger, zoologischer Desinfektor oder Lagerverwalter zur Bestimmung der Schädlinge braucht, so daß er sie sachgemäß bekämpfen kann, erscheinen in Großdruck. In Kleindruck werden feinere Unterscheidungsmerkmale gebracht, die auch Studenten und Wissenschaftlern an den Pflanzenschutzämtern der Landesbauernschaften und anderen Auskunftsstellen rasch eine Artbestimmung ermöglichen ohne Heranziehung einer umfangreichen Fachliteratur.

Zeitschr. f. Untersuchung d. Lebensmittel. Bd. 75 (1938), 7: In einer Zeit, in der „Kampf dem Verderb" nicht nur ein Schlagwort ist, sondern alles sich bemüht, Lebensmittel und Gebrauchsgegenstände vor jedem Schaden zu bewahren, muß es ganz besonders begrüßt werden, daß sich der Verf. der mühevollen Arbeit unterzogen hat, einen Bestimmungsschlüssel für die verschiedenen Vorratsschädlinge auszuarbeiten. . . . Zur Erleichterung der Bestimmungen sind dem Buch 171 vorzügliche Abbildungen beigegeben. In guter Vergrößerung werden Einzelteile kleiner und kleinster Schädlinge abgebildet, so daß man bei diesen mit Hilfe des Mikroskops schnell eine Entscheidung fällen kann. Von Ratten und Mäusen angefangen, findet man in dem Buch Schaben, Termiten, Borkenkäfer, Getreidenager, Werftkäfer, Speisebohnenkäfer, Wanzen, Holzwespen, Stechmücken, Käsefliegen, Kornmotten, Milben und viele andere, um nur kurz den Umfang des Buches anzudeuten. Aber nicht nur die Schädlinge selbst, sondern auch ihre Entwicklungsstadien, z. B. die Larven, sind in gesonderter Bestimmungstafel mit vorzüglichen Abbildungen aufgeführt. — Daß die deutschen Namen bevorzugt angegeben sind, erleichtert z. B. dem Kammerjäger die Sucharbeit. Alle, die sich mit Schädlingsbekämpfung abgeben müssen, besonders der Lebensmittelchemiker, werden sicherlich gerne zu den Bestimmungstabellen greifen.
J. Ph. Roßmann.

Arb. morph. taxon. Entomologie, Berlin-Dahlem. Bd. 5 (1938), Nr. 2: . . . Das Buch füllt zweifellos eine große Lücke im angewandt-entomologischen Schrifttum aus. Da es überdies inhaltlich sehr gut und vollständig ist, kann es allen, die sich mit Vorratsschädlingen und Hausungeziefer als Praktiker oder als Wissenschaftler zu befassen haben, aufs beste empfohlen werden.
Hans Sachtleben.

Der Biologe. Jahrg. 7 (1938), 2: . . . Das Weidnersche Buch gehört zweifellos mit zu der Grundausrüstung aller fachbehördlichen Forschungs-, Beratungs- und Bekämpfungsstellen, ebenso aber auch in die Handbücherei solcher privater Schädlingsbekämpfungsunternehmen aller Art, denen es darauf ankommt, nicht nur dieses oder jenes Bekämpfungsmittel oder -verfahren kritiklos an möglichst vielen Stellen zur Anwendung zu bringen, sondern diejenige Bekämpfungstaktik zu verfolgen, die nach voraufgegangener eindeutiger Feststellung des vorhandenen Schädlings wirklich zu einem Dauererfolge führt. . . .
Dr. Ext, Kiel.

Buchdruckerei F. Mitzlaff, Rudolstadt

Zentralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschliesslich Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz sowie Tierkrankheiten (ausschliesslich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

Herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp

Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19

Verlag von Gustav Fischer in Jena

100. Band | Jena, 12. April 1939 | Nr. 4/8

Das Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Zweite Abteilung, bringt Originalarbeiten, Sammel- und Einzel-Referate aus dem Gesamtgebiet der Mikrobiologie mit Ausnahme der in das alleinige Gebiet der Human- und Veterinärmedizin gehörenden Veröffentlichungen (vgl. hierzu die genauen Angaben auf der ersten Umschlagseite).

Das Zentralblatt erscheint in Einzelheften, jeder Band 26 Nummern umfassend, in zwangloser Folge. Im Jahre 1939 werden etwa 2 Bände ausgegeben, deren Gesamtladenpreis RM 60.— nicht überschreiten wird.

Die Herren Verfasser werden gebeten, die Manuskripte nur einseitig beschrieben und in deutlich lesbarer Schrift (wenn irgend möglich in Schreibmaschinenschrift mit mindestens 3 cm breitem Rand) und unbedingt druckfertig einzuliefern. Auf kürzeste Fassung des Textes ist besonders zu achten und an Abbildungen und Tabellen nur das wirklich Notwendige zu bringen.

Am Schluß jeder Arbeit wird eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse gefordert.

Alle für das Zentralblatt bestimmten Manuskripte (Originalarbeiten und Referate) sind direkt an den Herausgeber (Anschrift siehe auf der ersten Umschlagseite) zu senden, der allein über ihre Annahme entscheidet. Dagegen wird gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Schriftleitung, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

Originalabhandlungen.

Referate.

Zentralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten
Begründet von Oskar Uhlworm
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschliesslich Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz sowie Tierkrankheiten (ausschliesslich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)
Herausgegeben von
Oberregierungsrat Dr. C. Stapp
Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19
Verlag von Gustav Fischer in Jena

100. Band | Jena, 8. Mai 1939 | Nr. 9/13

Das Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Zweite Abteilung, bringt Originalarbeiten, Sammel- und Einzel-Referate aus dem Gesamtgebiet der Mikrobiologie mit Ausnahme der in das alleinige Gebiet der Human- und Veterinärmedizin gehörenden Veröffentlichungen (vgl. hierzu die genauen Angaben auf der ersten Umschlagseite).

Das Zentralblatt erscheint in Einzelheften, jeder Band 26 Nummern umfassend, in zwangloser Folge. Im Jahre 1939 werden etwa 2 Bände ausgegeben, deren Gesamtladenpreis RM 60.— nicht überschreiten wird.

Die Herren Verfasser werden gebeten, die Manuskripte nur einseitig beschrieben und in deutlich lesbarer Schrift (wenn irgend möglich in Schreibmaschinenschrift mit mindestens 3 cm breitem Rand) und unbedingt druckfertig einzuliefern. Auf kürzeste Fassung des Textes ist besonders zu achten und an Abbildungen und Tabellen nur das wirklich Notwendige zu bringen.

Am Schluß jeder Arbeit wird eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse gefordert.

Alle für das Zentralblatt bestimmten Manuskripte (Originalarbeiten und Referate) sind direkt an den Herausgeber (Anschrift siehe auf der ersten Umschlagseite) zu senden, der allein über ihre Annahme entscheidet. Dagegen wird gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Schriftleitung, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

Originalabhandlungen.

Referate.

Fortsetzung auf Seite 3 des Umschlags

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Pflanzenforschung

Herausgegeben von Prof. Dr. R. Kolkwitz, Berlin-Dahlem

Zuletzt erschienen:

Heft 20:

Studien über die durch H-Stück-Bau der Membran ausgezeichneten Gattungen Microspora, Binuclearia, Ulotrichopsis und Tribonema

Von

Dr. Lucia Wichmann

aus Berlin-Friedenau

Mit 17 Abbildungen im Text, 1 Verbreitungskarte und 8 Tafeln

V, 110 S. gr. 8° 1937 RM 12.—

Die in dieser Arbeit behandelten Algengattungen haben als gemeinsames Kennzeichen H-Struktur der Membran. Es wird der Beweis erbracht, daß der H-Stück-Bau bei den einzelnen Gattungen völlig verschieden, innerhalb jeder Gattung aber konstant ist, so daß er als systematisches Merkmal herangezogen werden kann. Die Untersuchungen über die genannten Algen erstrecken sich nicht nur auf die Zytologie, sondern es wurden auch Fortpflanzung und Systematik berücksichtigt.

Eine große Anzahl der Arten dieser Gattungen untersuchte die Verfasserin an lebendem Material, für einen anderen Teil der Arten stand ihr für die mikroskopischen Studien das reichhaltige Herbarmaterial des Botanischen Museums zu Berlin-Dahlem zur Verfügung.

Heft 21:

Die Algenflora der Mulde

Ein Beitrag zur Biologie saprober Flüsse

Von

Dr. Heinz Schroeder

Mit 6 Abbildungen im Text und 1 Tafel

VI, 88 S. gr. 8° 1939 RM 6.—

Die Mulde gehört zu den Flüssen, die besonders stark unter dem Einfluß von Mensch und Industrie stehen. Ihr Wasser dient überall gewerblichen Zwecken sowie im Oberlauf auch der Trinkwasserversorgung. Es ist daher bei ihrer weitgehenden und wechselvollen Inanspruchnahme lehrreich, den Einfluß der häuslichen und industriellen Abwässer auf die Mikroflora und -fauna kennenzulernen, weil diese bei der biologischen Selbstreinigung der Gewässer eine große Rolle spielen; bei einer Ueberlastung mit organischen Abfällen und Giftstoffen wird diese Selbstreinigung jedoch vielfach stark gestört. Es treten dann Fäulnisprozesse ein, die eine Auslese unter den vorhandenen Organismen bewirken und anderen tierischen und pflanzlichen Abwasserorganismen Lebensmöglichkeiten bieten, deren Vorhandensein Schlüsse auf den Zustand des Wassers zuläßt. Die gerade bestehenden, zum Teil extremen Verhältnisse der Mulde und der starke Wechsel der Diatomeen-Bestände boten dem Verfasser einen besonderen Anreiz zum Studium.

Buchdruckerei F. Mitzlaff, Rudolstadt

Zentralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschliesslich Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz sowie Tierkrankheiten (ausschliesslich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

Herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp

Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19

Verlag von Gustav Fischer in Jena 15-6-39

100. Band | Jena, 1. Juni 1939 | Nr. 14/17

Das Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Zweite Abteilung, bringt Originalarbeiten, Sammel- und Einzel-Referate aus dem Gesamtgebiet der Mikrobiologie mit Ausnahme der in das alleinige Gebiet der Human- und Veterinärmedizin gehörenden Veröffentlichungen (vgl. hierzu die genauen Angaben auf der ersten Umschlagseite).

Das Zentralblatt erscheint in Einzelheften, jeder Band 26 Nummern umfassend, in zwangloser Folge. Im Jahre 1939 werden etwa 2 Bände ausgegeben, deren Gesamtladenpreis RM 60.— nicht überschreiten wird.

Die Herren Verfasser werden gebeten, die Manuskripte nur einseitig beschrieben und in deutlich lesbarer Schrift (wenn irgend möglich in Schreibmaschinenschrift mit mindestens 3 cm breitem Rand) und unbedingt druckfertig einzuliefern. Auf kürzeste Fassung des Textes ist besonders zu achten und an Abbildungen und Tabellen nur das wirklich Notwendige zu bringen.

Am Schluß jeder Arbeit wird eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse gefordert.

Alle für das Zentralblatt bestimmten Manuskripte (Originalarbeiten und Referate) sind direkt an den Herausgeber (Anschrift siehe auf der ersten Umschlagseite) zu senden, der allein über ihre Annahme entscheidet. Dagegen wird gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Schriftleitung, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

Originalabhandlungen.

Referate.

Fortsetzung auf Seite 3 des Umschlags

Verlag von Gustav Fischer in Jena *Neue Veröffentlichung*

Die Tierwelt Deutschlands

und der angrenzenden Meeresteile
nach ihren Merkmalen und nach ihrer Lebensweise

Begründet von **Prof. Dr. Friedrich Dahl**

weitergeführt von

Maria Dahl und **Prof. Dr. Hans Bischoff**

Teil 36:

Fadenwürmer oder **Nematoden**

I:

Freilebende und pflanzenparasitische Nematoden

Von

Dr. Wilhelm Schneider
Krefeld

Mit 455 Abbildungen im Text. III, 260 S. gr. 8° 1939

RM 24.—

Inhalt: Einleitung (biologisch). / Literatur. / Bestimmungsschlüssel für die Familien der freilebenden Nematoden. 1. Fam.: Enoplidae. 2. Fam.: Chromadoridae. 3. Fam.: Araeolaimidae. 4. Fam.: Monhysteridae. 5. Fam.: Desmoscolecidae. 6. Fam.: Anguillulidae. / Sachverzeichnis.

Trotz der großen ökologischen Bedeutung der freilebenden Nematoden ist ihnen erst seit rund 70 Jahren größere Aufmerksamkeit zugewandt worden. Der Grund für diese Vernachlässigung liegt vornehmlich in der Schwierigkeit, die meist recht kleinen Arten (die größten erreichen im Meere wenige Zentimeter, im Süßwasser und in der Erde nie 1 cm, meist etwa 1 mm Länge) voneinander zu unterscheiden, zumal der Körperbau sehr gleichförimg ist und in seinen Hauptzügen unter den verschiedensten Lebensbedingungen mit Zähigkeit festgehalten wird.

In der Mehrzahl sind die freilebenden Fadenwürmer Pflanzen- oder Detritusfresser, zum kleineren Teil führen sie eine räuberische Lebensweise. Sie kommen in den verschiedensten Biotopen vor: im Meere, im Brack- und Süßwasser wie in der Erde, im sandigen und schlammigen Grunde stehender wie fließender Gewässer, im Aufwuchs der Wasserpflanzen, zwischen Algen und Wassermoosen, in Schwammstöcken und Bryozoenkolonien, in feuchtem und trockenem Boden, in faulenden organischen Substanzen, in Moosrasen, zwischen den Blattscheiden von Gräsern usw.

Ein allgemein anerkanntes System, das parasitische und freilebende Nematoden umfaßt, gibt es noch nicht; auch die verwandtschaftlichen Verhältnisse der freilebenden sind in vielen Punkten noch ungeklärt. Dem Verfasser war daher in seinen Tabellen die praktische Brauchbarkeit für die Bestimmung in erster Linie maßgebend. Zur Erleichterung der Bestimmung ist eine große Zahl von Abbildungen beigegeben und fast durchweg aus jeder Gattung mindestens ein Vertreter dargestellt.

Zur Erhöhung der Brauchbarkeit der Arbeit beschränkt sich der Verfasser nicht auf die verhältnismäßig noch wenig bekannte deutsche Nematodenfauna, sondern er hat auch die bisher nur in den Nachbarländern aufgefundenen Arten aufgenommen. Die vereinzelten ausschließlich pflanzenparasitischen Arten sind aus Gründen der Zweckmäßigkeit mit behandelt. Von den Gattungen, in denen sich alle Übergänge von freier zu parasitischer Lebensweise finden, wurden solche freilebenden Arten berücksichtigt, die sich als Larven unter den Flügeldecken, an den Beinen, im Enddarm usw. von Insekten finden, da es sich bei ihnen wohl nur selten um Schmarotzertum, sondern um eine Einrichtung handelt, durch die eine Verschleppung an Örtlichkeiten mit günstigen Ernährungsbedingungen gewährleistet werden soll.

Buchdruckerei F. Mitzlaff, Rudolstadt

Zentralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Begründet von Oskar Uhlworm

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftliche, technische, Nahrungsmittel-Bakteriologie und Mykologie (einschliesslich Gärungsphysiologie und Enzymologie), Protozoologie, Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz sowie Tierkrankheiten (ausschliesslich der in das Gebiet der Medizin gehörenden)

Herausgegeben von

Oberregierungsrat Dr. C. Stapp

Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19

Verlag von Gustav Fischer in Jena

100. Band Jena, 3. Juli 1939 Nr. 18/23

Das Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Zweite Abteilung, bringt Originalarbeiten, Sammel- und Einzel-Referate aus dem Gesamtgebiet der Mikrobiologie mit Ausnahme der in das alleinige Gebiet der Human- und Veterinärmedizin gehörenden Veröffentlichungen (vgl. hierzu die genauen Angaben auf der ersten Umschlagseite).

Das Zentralblatt erscheint in Einzelheften, jeder Band 26 Nummern umfassend, in zwangloser Folge. Im Jahre 1939 werden etwa 2 Bände ausgegeben, deren Gesamtladenpreis RM 60.— nicht überschreiten wird.

Die Herren Verfasser werden gebeten, die Manuskripte nur einseitig beschrieben und in deutlich lesbarer Schrift (wenn irgend möglich in Schreibmaschinenschrift mit mindestens 3 cm breitem Rand) und unbedingt druckfertig einzuliefern. Auf kürzeste Fassung des Textes ist besonders zu achten und an Abbildungen und Tabellen nur das wirklich Notwendige zu bringen.

Am Schluß jeder Arbeit wird eine kurze Zusammenfassung der Ergebnisse gefordert.

Alle für das Zentralblatt bestimmten Manuskripte (Originalarbeiten und Referate) sind direkt an den Herausgeber (Anschrift siehe auf der ersten Umschlagseite) zu senden, der allein über ihre Annahme entscheidet. Dagegen wird gebeten, bereits fertiggestellte Klischees — falls solche mit den Manuskripten abgeliefert werden — nicht der Schriftleitung, sondern direkt der Verlagsbuchhandlung Gustav Fischer in Jena einzusenden.

Inhalt.

Originalabhandlungen.

Referate.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 100. No. 1|3.
Ausgegeben am 6. März 1939.

Dem 100. Bande zum Geleit.

Der Herr Herausgeber der zweiten Abteilung des Zentralblattes für Bakteriologie hat mich freundlichst dazu aufgefordert, dem jetzt in das wissenschaftliche Leben eintretenden hundertsten Bande der Zeitschrift ein Geleitwort mit auf den Weg zu geben. So möchte ich denn diesem Bande sowie allen, die ihm folgen werden, ein ebenso herzliches wie zuversichtliches Glückauf für die Zukunft zurufen!

Die stattliche Reihe von Bänden, die erschienen sind seit 1895, dem Jahre, in welchem sich die der medizinischen Bakteriologie gewidmete erste Abteilung des Zentralblattes und die zweite, welche der allgemeinen, der landwirtschaftlich-technologischen Bakteriologie, der Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie dient, voneinander getrennt haben, legt ein beredtes Zeugnis ab für die gewaltige und erfolgreiche Arbeit, die auf den genannten Gebieten geleistet worden ist; nicht minder für die Verdienste, welche sich die Herausgeber, die im Laufe der 45 Jahre aufeinander gefolgt sind, erworben haben: Oskar Uhlworm von 1895 bis 1898, (Bd. 1 bis 4), Uhlworm und Emil Christian Hansen von 1899 bis 1909 (Bd. 5 bis 24), dann wieder Uhlworm allein von 1910 bis 1914 (Bd. 25 bis 39), Uhlworm und Felix Löhnis von 1914 bis 1922 (Bd. 40 bis 57), Uhlworm, Löhnis und K. Friederichs von 1923 bis 1929 (Bd. 58 bis 77), Löhnis, Friederichs und E. Riehm von 1929 bis 1931 (Bd. 78 bis 82), Hugo Miehe von 1931 bis 1932 (Bd. 83 bis 85), und endlich Carl Stapp seit 1932 (Bd. 86 u. folgende). Ganz besonders sei ferner der großen Verdienste des bewährten Verlages gedacht, dem es zu verdanken ist, daß die Ausstattung der Zeitschrift auch in schweren Zeiten auf der Höhe geblieben ist; der bescheidene Preis hat es auch den Bakteriologen, welche nicht mit vielen Glücksgütern gesegnet sind, ermöglicht, das Zentralblatt zu beziehen.

Es gewährt einen ganz besonderen Reiz, in den verschiedenen, älteren oder jüngeren Jahrgängen zu blättern, sich dabei die Namen und Leistungen vieler hervorragender, deutscher und ausländischer Mikrobiologen, die zum großen Teil nicht mehr unter den Lebenden weilen, zu vergegenwärtigen und sich zu erinnern an die mannigfaltigen in dem Zentralblatte behandelten Probleme, die entweder im Laufe der Zeit bereits einer vorläufigen Lösung zugeführt worden sind, oder auch noch heutigen

Tages im Mittelpunkte wissenschaftlicher Erörterung stehen; streifen wir im Fluge einige solche Fragen:

Viele Arbeiten handeln von der Morphologie und Entwicklungsgeschichte, Systematik und Variabilität, Physiologie und Oekologie der Bakterien, Hefen und sonstigen Pilze. — Daß der biogene Kreislauf der Elemente im Vordergrunde des Interesses steht, zeigt uns ein Blick auf die allererste Arbeit, die von der Sulfatreduktion durch Bakterien handelt. Noch eingehender als der Kreislauf des Schwefels wird naturgemäß der für die Landwirtschaft besonders wichtige des Stickstoffs und seiner Verbindungen gepflegt; so treffen wir schon in den ersten Bänden auf wichtige Studien über Denitrifikation, Nitrifikation und Stickstoffbindung; die Gattung Azotobacter wird durch eine Arbeit des siebenten Bandes (1901) zum ersten Male bekannt. Eng verbunden damit sind diejenigen Arbeiten, die den Kohlenstoffkreislauf betreffen; hier finden wir behandelt Auto- und Heterotrophie, Zersetzung von Zellulose, Pektin und vielen andern Naturstoffen, sodann die verschiedensten Gärungserscheinungen, eng verwoben mit enzymologischen Fragen, sei es, daß es sich um Gärungen von zunächst mehr theoretischer Bedeutung handelt, sei es, daß technische Gärungen und die Einführung von Reinzuchten in die Betriebe zur Erörterung stehen. — Die Behandlung pathogener Pilze und Bakterien kommt nicht zu kurz; es ist lehrreich zu sehen, daß noch 1899, Bd. 5, darüber gestritten wurde, ob es wirkliche Bakteriosen von Pflanzen gibt und so die Bedeutung eines Sondergebietes in Frage gestellt werden konnte, das heute zu den wichtigsten Zweigen der angewandten Bakteriologie zählt. — Nicht zu vergessen sind Untersuchungen über Viruskrankheiten; schon 1899 finden wir wichtige Arbeiten und Erörterungen über das Wesen der Mosaikkrankheit der Tabakpflanze. Arbeiten über Wuchsstoffe und Vitamine ergänzen das Bild. Auf die Studien über tierische Schädlinge, zumal der Kulturpflanzen und verwandte Probleme kann nur kurz hingewiesen werden.

Haben wir bis jetzt den Inhalt von Originalarbeiten ins Auge gefaßt, so müssen wir doch auch auf das reiche Material hinweisen, das in den zahlreichen Referaten und Berichten gelehrter Gesellschaften niedergelegt und dem Leser zur Verfügung gestellt ist.

Wir schließen mit der sicheren Hoffnung, daß unser Zentralblatt auch künftig das bleiben wird, was es bisher gewesen ist: ein unentbehrliches Rüstzeug für alle Forscher, welche auf dem Gebiete der Bakteriologie und Mykologie, der Lehre von den Infektionskrankheiten und der Parasitenkunde erfolgreich tätig sein wollen. *W. Benecke.*

Cytological Appearances in a Spore-Forming Bacillus. Evidence of Meiosis.

[From the Agricultural Bacteriology Department, University of Reading, England.]

By **L. A. Allen, J. C. Appleby** and **J. Wolf.**

With 5 figures in the text and 2 plates.

Since the early work of Löhnis and Smith (15 and 16), describing the varied morphology of the cells of Azotobacter and other bacteria, as the culture passed from an early to an advanced stage of growth, many papers have been published on the morphology, cytology and variation of single bacterial species. There has been built up in this way a great deal of evidence which supports the view that bacteria are far from being the monomorphic individuals they were at one time thought to be and that, in fact, a single species may pass through a considerable cycle of changes as the culture ages. These changes have been shown in many instances to be accompanied by rearrangement of the internal structures of the cells, which have been rendered visible either by special staining methods or by differences in refractive index when viewed by transmitted light. The view is now widely held that bacteria may show evidence of a nuclear structure which exhibits characteristic changes during cell division or spore-formation.

The appearance of granules in the cells of some species has long been recognised — e. g. "metachromatic bodies", "sporogenic granules" or "volutin granules". They have usually been described as refractile in the unstained condition, with strong affinity for basic dyes when stained. They have been found to consist of nucleic acid combined with an organic base but have frequently been dismissed as reserve materials of a transitory nature not vitally connected with reproductive processes.

On the other hand Stille (20), in an investigation on the application of Feulgen's nuclear stain to bacteria, found that all species studied gave a positive nuclear reaction, the disposition of the nuclear material depending on the stage of development of the culture. The number and arrangement of the nuclear structures showed a regular relationship to cell division and spore-formation. Spores contained one nuclear granule, vegetative cells (particulary the youngest phases) two to four granules. As soon as the vegetative cells in the "four granule" condition were found cell division followed, after which the "two-granule" condition reappeared. Division of the granules preceded cell division by a generation. At spore formation the spore contained one nuclear granule, the second granule (which appeared simultaneously in the parent cell) perishing with the residue of the cell, after liberation of the spore.

Stoughton (21 and 22), using a vital staining technique, found in cells of Bact. malvacearum a centrally placed body, usually spherical, which stained deeply with basic dyes and became elongated to a dumb-bell appearance in dividing cells. Its behaviour suggested the nature of a nucleus which underwent division. Another method of reproduction in this organism, in addition to the usual one of simple fission, was observed in the formation of a coccus body budding from the side of the parent cell and eventually liberated by an abscission of the narrow neck joining the coccus to the rod. After an interval this coccus germinated and formed a normal rod. Fusion between pairs of cells, resulting in the formation of a coccus-like zygospore, was interpreted as sexual conjugation.

Cytology prior to spore-formation has been described by many workers, using a variety of methods. The descriptions fall into three main categories: (1) A homogeneous granule forms in the cytoplasm and gradually enlarges to form the spore. (2) Some of the granules in the cytoplasm, which may play the role of nucleus, fuse and together give rise to the spore material. (3) The cell substance in a particular area is gradually condensed, possibly due to dehydration. and forms a spore.

Bayne-Jones and Petrilli (4), commenting on these descriptions, doubt whether the periodic observations of the workers responsible for them gave sufficient evidence to arrive at the truth. These authors took continuous motion photomicrographs of a culture of B. megatherium growing on nutrient agar. It was found that at first the cells were large and hyaline but that refractile granules appeared after about three hours and increased in numbers. After 8—13 hours the terminal regions of the cells began to lose their granules and a clear area resulted which appeared to be denser than the remainder of the cell. The "prespore" stage appeared within this area as a dense refractile region which quickly contracted to an ellipsoidal spore. Similar appearances were reported by Lewis (14) in a study of spore-formation by B. mycoides.

Badian (3), using fixed and stained preparations, traced the cytological changes in B. subtilis. The vegetative cell, resulting from a freshly germinated spore, first shows a single transverse chromatin band, which is interpreted as a chromosome. This divides longitudinally into two and is distributed equally amongst daughter cells. Spore formation is preceded by autogamic conjugation. Division of the chromosome is then not accompanied by cell division but the two daughter chromosomes move first to the poles of the cell and then return to the centre, where fusion occurs and a bivalent chromosome is formed in a diploid cell. This is followed by reduction division, the bivalent chromosome dividing twice in succession to form four daughter chromosomes in one cell. One of these chromosomes develops into the spore while the remaining three migrate to one or both poles of the cell and remain as deeply staining areas.

Chance (5), in a preliminary report of observations on a spore-forming soil organism similar to B. mesentericus, records a redistribution and reorganisation of material within the cells during the earlier stages of growth which resembles mitosis.

Reproduction in bacteria by methods other than simple fission has been reported by a number of workers.

Löhnis and Smith (loc. cit.), in cultures of Azotobacter, noted gonidia and regenerative bodies formed from symplasm. Hort (11) reported reproduction by budding in the Meningococcus and organisms of the typhoid-paratyphoid group. Bodies suggestive of asci, which gave rise to filterable forms, were found in the meningococcus. Budding has also been reported by Lewis (13) in B. mycoides and by Knaysi (12) in B. megatherium. Gonidia have been reported by many workers e. g. by Almquist (2) in Bact. typhosum, by Haag (10) in B. anthracis, by Mellon, Richardson and Fisher (17) in the avian tubercle bacillus, by Stoughton (loc. cit.) and by Cunningham (6), who also found many other forms in the life-cycle of B. saccharobutyricus.

Sufficient of the literature has been quoted to show that the morphological and cytological changes exhibited by a pure culture may often be considerable, that the methods of reproduction may not by any means be confined to the well known one of simple fission, and that the series of changes which take place justifies in many cases the view that a definite but complicated life cycle occurs. A survey of such literature, however, leads to the conclusion that the variety of methods used by different workers may in itself be responsible for some of the differences in results obtained and that, particularly in the large number of cases where fixed and stained preparations have been used, some of the appearances reported as connected with the life processes of the organisms concerned may easily have been artefacts induced by unsuitable methods.

As spore-forming organism which was isolated from grass showed evidence, in preliminary examination by ordinary methods. of a more than common variation in morphology at different ages. It was decided, therefore, to subject it to a very detailed and comprehensive examination by more delicate methods, in order to determine the nature and, as far as possible, the sequence, of changes which occurred.

Characters of the Organism Investigated. The organism grew well aerobically on ordinary laboratory media at 30° C., showing on a nutrient agar slope a luxuriant white spreading growth. Examined after 24 hours in fixed stained preparations it appeared as a rod, about 3—4 μ in length, with subterminal oval spores. Plate I, Fig. 1, shows its appearance in a preparation stained by Gram's method and Plate I, Fig. 2, the same culture stained by a modified Dorner's spore stain. It formed acid but no gas in a number of carbohydrate broths, including dextrose, sucrose and maltose, but not lactose. Litmus milk was clotted after several days and slowly digested, gelatin was liquefied and nitrate reduced to nitrite. Indol was not produced.

Methods of examination. The strains used were first purified by several successive platings and a single cell culture obtained by Gardner's method (9). In the course of a long period of examination this was repeated several times.

Since the object of the work was to observe cytological changes, and particularly any which suggested nuclear behaviour, it was decided to use the vital staining method of Nakanishi as modified by Stoughton (21). A very thin film of the stain (in alcoholic solution) was prepared on a chemically clean slide and allowed to dry. A very small quantity of a surface growth of the organism was transferred by means of a sterile wire to a drop of water on a cover slip. The latter was then inverted on to the stained slide and the edges seled with vaseline. The stain was gradually taken up by the stainable portions of the bacterial cells. This method was preferred to fixed, stained preparations because of the danger of distortion and artefacts induced by such treatment; and to dark-ground illumination of living cells, because it is impossible to distinguish by such means between nuclear and other structures, whereas affinity for basic dyes does form a useful criterion in this respect. It may still be objected that the appearances seen, even by a vital staining method, are not the same as those in a living cell in a culture. That the vital stains used probably had no adverse influence in this way was shown by the fact that the organism grew well in nutrient broth containing one part in 10,000 of neutral red chloride, and when preparations from this were examined under a cover slip, with no further treatment, many of the cells showed stained internal structures. Moreover all the structures described below as forming an essential part of the cycle of changes were observed many times in the course of several thousand examinations, and those characteristic of any particular growth stage always had an easily recognisable similarity in appearance.

Of several stains tried neutral red chloride and brilliant vital red gave the clearest preparations and were used throughout. Preparations from nutrient agar slopes were found to be most convenient and the clearest results were obtained from nutrient agar in which all the constituents except the agar were sterilised by filtration through a Berkefeld candle and were not heated.

In order to cover the whole period of development two slopes were inoculated at 12-hour intervals and incubated at 30° C., each being sown from a very young colony developing from a single cell. By taking portions of growth from various parts of each slope at intervals over a 12-hour period each day the whole cycle of development was covered. Any objection that there may have been differences between the two slopes was negatived by the fact that many repetitions of the same procedure led to similar conclusions.

Sequence of Changes in Morphology and Cytology in a Growing and Ageing Culture.

For the first few hours the cells consist of rather large rods with occasional long threads, hyaline in appearance and with no visible internal struc-

ture (a, Fig. 1). Later there appear some small refractile granules, more or less spherical, at first very minute and not easily distinguishable, but soon increasing in size and number in each cell. The frequent occurrence in such granules of closely placed pairs and dumb-bell arrangements suggests that the increase in numbers is due to multiplication by fission (b and c, Fig. 1 and Plate I, Fig. 6). When freshly examined in vital stained preparations they appear as unstained and refractile but they slowly take up the dye, especially under the influence of strong light from a microscope lamp. In some cases collections of such granules were seen outside the cells, giving the impression that they are liberated and may have some vital function.

Small rod forms. At about the same time as the granular cells appear small rod forms are seen, varying in size from very minute forms to slender granular rods 4 or 5 μ in length. The fact that they do not appear to originate inside the ordinary bacillary cells, combined with their very granular appearance, suggests that they may be derived from the liberated granules mentioned above (k, l, m. Fig. 1. and Plate I, Fig. 7 and 8). That they are in fact developed from originally very minute forms was confirmed by the fact that, on several occasions, by filtration of a broth culture

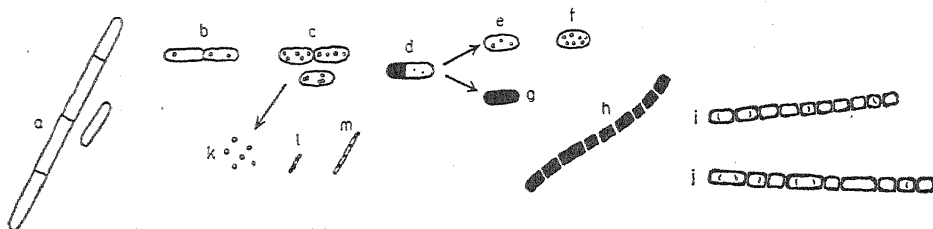



Fig. 1. Types of cells seen in early stages of growth prior to spore formation.

of the spore-forming organism through a Berkefeld filter, a filtrate was obtained which, after incubation, was found to contain an apparently pure culture of small, slender, motile rods, similar to those already described. This filtrate was subcultured to a nutrient agar slope and the development during incubation followed by observation of stained preparations. The detailed results of these and other filtration experiments will form the subject of a later communication. It is sufficient to state here that after a complicated life cycle peculiar to themselves these small rods appeared to be transformed into the original spore-former.

Fission into dissimilar parts. For some hours the cells multiply by simple fission but at an early stage of growth a characteristic differentiation of the cell contents into two dissimilar parts is evident in stained preparations, one part of the cell appearing as deeply stained while the other half is almost unstained and faintly granular. A sharp line of division separates the two areas (d, Fig. 1, and Plate I, Fig. 4). Simple fission liberates the two parts as separate cells, one of a deeply staining character, the other taking the stain very lightly. These two types of cells then multiply by fission in the ordinary way, the descendants being characteristic of the parent cell in each case and following a distinct line of development.

A similar differentiation has been noted by the authors (1) in the case of several other spore-formers, including B. subtilis and B. mega-

therium, and is thought to be the precursor of a differentiation in methods of spore-formation in cells of the same culture.

Development of refractile granular cells. These are the first to form endospores and they do so by a method which is similar to that described by Bayne-jones and Petrilli (loc. cit.) for B. megatherium and by Lewis (loc. cit.) for B. mycoides. The changes observed are shown in Fig. 2 A, 1—6. First a homogeneous, almost unstainable area, occupying about one-third to one-half of the cell, appears at one end and is clearly separated from the remaining cytoplasm, in which there are refractile granules. The spore is formed by condensation of material in this clear area to form a stainable body which contracts to the size of the spore and eventually becomes refractile. The granules in the remaining portion of the cell decrease in size during this process and finally may not be apparent at all, though there are frequently some visible when the spore is fully formed, and they often stain readily with basic dyes. Probably they function mainly as reserve food materials. The fully formed spore is subterminal and oval, while the cell in which it appears is more oval than the other spore-forming types seen in the same culture, which tend to be longer and straight-sided.

Fig. 2. Types of cells seen during spore formation.

Spore formation appears to be initiated about the same time as cell division and this results in the frequent appearance of pairs of sporulating cells placed end to end. Occasionally fission is incomplete and results in an apparently disporous cell (cp. Dobell [7], commenting on the appearance described by Schaudinn in B. bütschlii).

Development of the stainable cells. These multiply and persist in the vegetative form for a longer period than the cells containing refractile granules, show a greater variety in morphology and in consequence make it more difficult to follow their sequence of development.

Appearances suggesting gonidia may take one of two forms: (a) minute stainable granules projecting from the cells on slender stalks and not easily visible. (b) larger, densely stained, more or less spherical, intracellular granules which may be adpressed to the cell wall or bulging outward from it and are probably liberated by extrusion through the cell membrane.

The more obvious method of reproduction is by simple fission which, however, results in a short time in a number of different types of cells which

may occur together in any one preparation. One characteristic appearance is that of chains of cells, staining deeply, of uneven length and separated from each other by sharply cut edges (h, Fig. 1, and Plate I, Fig. 5). Another noticeable type is small cells with square ends, in which the membrane is thick and stains deeply but the cytoplasm remains unstained (i, Fig. 1). A slender stainable filament is seen in the interior of some of these cells. Similar but larger cells, some of which contain two such filaments (j, Fig. 1), combined with the fact that these small cells become less and less apparent as the culture ages, point to the possibility either of conjugation between adjacent members of the chain of small cells to form a larger cell, or of division of the stainable filament into two similar filaments, accompanied by a failure in cell division.

The stainable cells eventually form spores and appear to do so by more than one alternative method. One of these processes is a very marked and regular one and the structures involved are strongly suggestive of meiosis.

Cytological changes during spore-formation suggesting meiosis. The appearances characteristic of this particular change are prominent in preparations made from a culture 18—24 hours old Since several phases of the change may be apparent in preparations made from different parts of the same slope culture at any one time it is difficult to be certain of the exact sequence leading to formation of the spore. The most marked phases (shown in Fig. 2, B, 1—11) are, however, as follows: (1) A lightly stained cell containing two rather indistinct, more deeply staining threads. (2) A thick, rather deeply staining, equatorial band near the middle of the cell. (3) A structure which at first sight appears like an imperfect cross but which, on closer inspection, is revealed as composed of two L-shaped bodies with rounded angles, which are contiguous. In some cases these structures are comparatively thin, with a clear outline, while in others the constituent parts are thicker at the centre, resulting in an appearance somewhat like a fourpointed star. (4) Two deeply staining rods lying across each other to form a well-marked cross. At certain stages of growth many cells in any one preparation may show this structure. (5) A double cross resulting from two structures similar to that just described and lying side by side. In many pairs of cells (presumably resulting from fission of the same parent) one member shows the single cross while the other shows the double cross. The latter is usually less clearly marked than the single structure. (6) At the same time as the above changes occur one end of the cell shows the formation of a deeply staining broad crescent, contiguous with the polar cell membrane and apparently arising by the contraction of more lightly stained material from a larger area of the cell. (7) A structure first recognisable as the precursor of a spore occurs in the form of an oval stainable body situated between the centre and the end opposite to the crescent. This appears to increase in size, finally losing its property of staining with basic dyes and becoming refractile. (8) Meanwhile the stainable crescent contracts somewhat in size and becomes pointed at the poles, eventually dividing into two rod-shaped bodies lying parallel with the axis of the cell. (9) At the end of the cell opposite to the crescent structure there is usually visible a small amount of stainable material which generally takes the form of a thin crescent lining the polar membrane. It is always much smaller than the crescent described above and at completion of spore-formation is often scarcely noticeable.

Other methods of spore-formation. There were indications that some of the stainable type of cells proceeded to form endospores by methods not involving meiosis. The series of changes by which this was accomplished was less easy to elucidate than the sequence just described, but the spore developed in a subterminal position in a cleared area of the cytoplasm, from an initial small curved rod, which gave rise to a round stainable body. This grew in size and eventually became refractile. A deeply staining crescent is formed at the opposite pole of the cell by condensation of the cell contents, but this crescent does not divide into two structures as in the case described above. The various appearances seen in numerous preparations are resolved into the sequence shown in Fig. 2, C, 1—8. In some sporulating cells of similar size the deeply stained crescent does not appear to be formed.

Other, much less numerous types of sporulating cells are (1) that produced by the small, square-ended cells previously referred to. Here the spore is of necessity much smaller than those of the types already described and is often in a skew position with reference to the axis of the cell. Only a few of these cells form spores (Fig. 2, D). (2) a short, thick cell, containing a spore which almost fills the cell, seen only occasionally (Fig. 2, E).

Behaviour of liberated spores. The spores freed from the parent cells vary considerably in size but are all more or loss oval in shape. They show, for a long period after liberation, a thin, boat-shaped outer membrane which projects from both ends of the spore, and at one stage of development (after about 48 hours) the culture consists very largely of these free spores. Bacterial spores are commonly regarded as resting forms whose main function is to resist adverse conditions until they encounter a suitable environment, when germination and reproduction in a fresh cycle of growth takes place. For this reason they are not expected to show any changes in the old medium, the only suggestion to the contrary of which the authors are aware, being a statement by Mellon (see Allen et al. (loc. cit.) that the spore may be a cover for nuclear reorganisation.

A considerable proportion of the spores in the ageing culture of the organism described here were quite obviously undergoing cytological changes, and internal structures were visible in cultures from several days to several weeks old. At certain stages the proportion of the total spores which showed

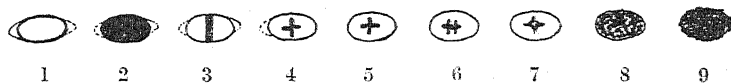



Fig. 3.
Nuclear changes in liberated spores in an old medium (so-called "resting" condition).

nuclear changes was considerable. The appearances (represented in Fig. 3, 1—9, and in the photomicrographs in Plate II, Figs. 20—25) were as follows: (1) The spore lost its refractile appearance and stained deeply and evenly, still retaining the delicate projecting membrane, which was unstained. (2) Instead of being disposed evenly in the spore the chromatin material is arranged in the form of a transverse band across the whole width of the spore. (3) The stainable structure assumes the form of a cross more or less centrally placed in the spore, while in a smaller number of spores there is a less regular double

cross. Owing to their small size these structures were not so easily discernible as the structures described in spore formation but their general character can be clearly seen in the photomicrograph in Plate II, Fig. 23. In some cases an imperfect cross evidently consisted, as in the case of the spore-forming cell already described, of two L-shaped bodies with their angles contiguous. (4) The chromatin material becomes more diffused and granular. In some cases it is dispersed well within the confines of the membrane and may sometimes appear to be in the form of a ring of granules, in others it fills the whole spore, which then loses its clear outline. In the latter case gonidia-like projections were occasionally seen, suggesting the liberation of nuclear granules which may have some reproductive significance.

The similarity between the nuclear rearrangements in the free spores and those already described as preceding one method of spore-formation in the vegetative cells are sufficiently striking to need no further comment at present.

By no means all the free spores, however, showed this character of nuclear reorganisation. A large proportion retained their refractile appearance and did not take up stains at all. From the nature of the alternative processes leading to spore formation it is to be expected that the free spores would possess potentially different characteristics. An obvious possibility, which is at once suggested by nuclear changes occurring in liberated spores is that they are a preliminary to germination and the beginning of a second cycle of growth. The authors do not, however, regard this as the correct interpretation and, in fact, practical evidence to the contrary was obtained by the following experiments:

Thin slabs of nutrient agar, 1—2 cms. square, were sealed on to sterile slides by running paraffin wax round the edges. After sowing the surface with a thin suspension of the culture these slabs were incubated in petri dishes containing moist filter paper, until examination showed the surface growth to consist almost entirely of free spores. The growth was then scraped from the surface as completely as possible and suspended in saline, while the agar slab was either inverted on the slide in the same position or the top half removed by section. In this way a fresh agar surface was obtained which could be re-sown, but as the slab now consisted of agar in which considerable growth products had diffused, it was reasonable to assume that spores sown on to it would behave as in an old medium and not as if inoculated into a fresh medium. The surface was therefore thinly sown with the saline suspension of spores and sprinkled with particles of sterile ash to serve as reference points for purposes of orientation (cp. Gardner, loc. cit.). The positions of well-separated spores were noted microscopically with the $^{1}/_{8}''$ lens, the preparation incubated and the spores re-examined at intervals. The difficulties of the method made it impossible to record observations for very long periods but, of 92 separate spores, which were watched for periods from 1—13 days, none showed signs of germinating into a rod.

Appearances of germinating spores sown on to a fresh medium. The surface of an agar slope was thinly sown with an inoculum taken from a 48-hour culture, in which there was a preponderance of free spores, and stained preparations were made at frequent intervals after incubating at 30° C. Germination occurred very quickly and after two hours several young rods had been formed.

It was found that there were two distinct types of spore, both forming a considerable proportion of the total number. One type showed obvious nuclear changes during germination while the other gave rise to a faintly stained rod with no apparent internal structure. Both types germinated by extrusion of the rod from one pole of the spore, while the other pole retained for some time during the process its attached pointed membrane. The two sequences of changes which occur are shown in Fig. 4, A and B.

T y p e A. The spore loses its refractivity, enlarges to the dimensions of a vegetative cell and divides by transverse fission. It stains feebly and uniformly and shows no internal structure. After several divisions have occurred the presence of refractile granules is apparent.

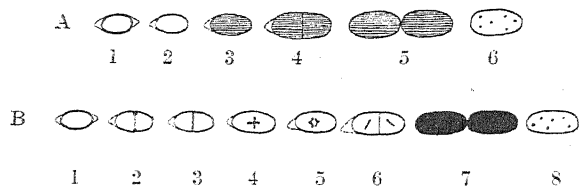



Fig. 4. Appearances in spores during germination after sowing on a new medium.

T y p e B. When emerging from the spore the young rod contains a nuclear structure which undergoes division. A central, transverse band of chromatin is resolved into a cross structure, the two halves of which are pulled apart and are soon transformed into minute, separate, rod-shaped structures. Fission of the cell results in two cells each containing one of these rods. The latter then disappear, giving rise to cells which at first stain evenly and rather deeply, but after a few cell divisions they lose their staining capacity and acquire refractile granules.

Thus, although the cytological changes during germination are different in the two types of spore, both types eventually give rise to apparently identical rods containing refractile granules.

A b n o r m a l f o r m s o f c e l l s. When spore formation is complete there appear in the culture, in addition to the normal types and free spores, a number of cells whose morphology is quite distinct from that of the cells occurring at an earlier stage. These include bulbous forms, bean-shaped cells, curved and twisted types, and threads. Some of the cells clearly form buds. All these types have frequently been described in the literature as involution forms. Their origin is uncertain but probably they arise in cells which have failed to sporulate, from the effort to adapt themselves to the unfavourable environment of an ageing culture, as suggested by R e t t g e r and G i l l e s p i e (18). On transferring to a new medium these forms were converted to normal cells by a gradual change in shape. Some of the types found are shown in photographs in Plate II, Figs. 23 and 27.

L a r g e s p o r a n g i a. In old cultures of the organism appearances suggestive of encystment were sometimes seen. These consisted usually of large oval or round sacs, containing spherical bodies which stained deeply, and they varied considerably in size and number. In some cases the sac was elongated and possessed a bulbous enlargement at one end. The authors have obtained no evidence as to their origin or function but their appearance is clearly shown in Plate II, Figs. 28 to 30. They somewhat resemble asci in yeasts.

Interpretation of Results.

It is evident that a spore-forming bacillus which, by examination of ordinary fixed stained preparations, might easily be dismissed as an organism which reproduces by fission and later forms spores has, as a result of a much more detailed and continuous examination of preparations made by vital staining, shown evidence not only of a complicated life cycle but of cytological appearances indicating nuclear reorganisation. These involve the participation of chromatin units which bear a striking resemblance to the chromosomes of higher organisms.

Early in the growth cycle the process of transverse fission of the vegetative cells is interrupted by the clear demarcation of cells into two types — one stainable, the other almost unstained — and these subsequently follow a separate cycle of development. Both types carry the potentiality for spore formation but the respective methods by which this is accomplished differ in that the non-stainable cells form spores by a method which is similar to that described by other workers for different bacilli, whereas at least a large proportion of the stainable cells undergo well-marked and characteristic stages in nuclear reorganisation prior to spore formation.

Moreover it is clear that this organism has other methods of reproduction besides the well-known one of transverse fission. The liberation of granules from the vegetative cells appears to be linked with the production of the minute granular rods which occur early during the growth of the culture and which separate experiments have shown to be capable of evolving into the original spore-forming type. This alternative method of reproduction, by extrusion from the vegetative cells of viable units, is similar to the reproduction by conidia in the iron bacteria, described by Ellis (8).

Very clear evidence has also been obtained that all the spores formed by this organism are certainly not simply resting forms awaiting more favourable conditions before they can germinate. One type of liberated spore, forming a considerable proportion of the total number, undergoes nuclear reorganisation in the old culture without transference to a fresh medium.

Evidence of meiosis. It is clear that the most important cytological appearances, of all those observed during the life cycle, are the nuclear structures which appear in well-defined patterns prior to spore formation in the stainable type of cells, and which have their counterpart in the structures seen in some of the free spores in an old medium, and during the germination of some of the spores when inoculated on to a fresh medium. They have been clearly seen many times in cultures of this organism at approximately the same stages of incubation, they resemble closely the cytological structures described in the nuclear changes of higher organisms, and so far as the authors are aware this is the first occasion on which such structures have been noted in bacteria.

For these reasons interpretation of the changes described throughout the life cycle must have these particular structures as a basis. The most clearly seen, because they occur in the comparatively large vegetative cells, are those which appear prior to spore formation. Reference to Fig. 2, B, and to Plate I, Figs. 12—16, will indicate the structures visible at this stage. The most striking of these is the cross, which in some cells is so clearly outlined that it appears to consist of two rods intersecting at right angles. Appearances in other cells, however, suggest a more complex constitution.

There were often cases where, instead of two rods intersecting, the structure consisted of two L-shaped bodies whose angles were contiguous, resulting in an imperfect cross. These immediately suggest that the cross is a tetrad resulting from the conjunction of two chromosomes, and such a tetrad is well known to be a characteristic stage in meiosis in higher organisms — the stage of diakinesis following the "crossing over" of segments of the constituent chromosomes. If we take this as a working hypothesis we can interpret the appearances shown in Fig. 2, B, as a cycle of changes representing the behaviour of a cell containing two chromosomes undergoing meiosis. This interpretation is expressed diagrammatically in Fig. 5, a—f, where one chromosome is represented by continuous lines and the other by broken lines. Thus the two chromosomes in the leptotene stage become paired at zygotene and, by splitting into constituent chromatids, form the four-strand pachytene stage represented in c. Separation of the two homologous chromosomes, accompanied by breaking and "crossing over" of two of the chromatids, would result in a bivalent with one chiasma. This condition, at late diplotene, is shown in d. Rotation of the arms of the cross would then result in the tetrad structure (diakinesis), which is followed by separation of the diads at anaphase.

In comparing the structures involved in this hypothesis with the appearances actually seen in vital-stained preparations it is necessary to remember that chromosomes consist of chromonema embedded in matrix and that it is well known that, in the cytological changes which have been described in the cells of higher organisms, the matrix tends to become conspicuous as diplotene passes into diakinesis and so gives the tetrad a smooth contour. This would result in the diplotene, diakinesis and anaphase stages giving rise to appearances in stained preparations like those shown in g, h, and i. These appearances were, in fact, much more conspicuous than those corresponding to other phases in the nuclear reorganisation.

Fig. 5. Diagrammatic interpretation of cytological changes during meiosis prior to spore formation in stainable type of cells. g, h, and i represent the appearances which would be seen if the chromosomes were obscured by the presence of stainable matrix, and they approximate to the appearances actually observed in stained preparations.

Separation of the diads and the surrounding matrix is finally complete and results in an appearance similar to that in Fig. 2, B, 8, where no pattern due to constituent chromosomes is apparent. It is possible that in this condition each separated chromosome undergoes a mitosis and, if the process of meiosis in these cells follows the usual lines, one would expect this to occur. No clear indication of it was, however, obtained from stained preparations. On the other hand the formation of two polar rods (Fig. 2, B, 11) and the stainable material at the other end of the cell suggest that a further mitosis may occur, resulting in four chromosomes, one of which goes to form the spore, the remaining three being extruded as "polar bodies".

Meiosis at spore formation in this bacillus has its analogue in the cytology of certain other organisms [details are summarised by Sharp (19)].

From the above explanation it follows that the cell undergoing meiosis at spore formation is a diploid cell, containing two chromosomes, which gives rise to a haploid spore. The ordinary vegetative cell would therefore be haploid and contain one chromosome, and evidence to this effect is obtained from the number of cells, of the type shown in Fig. 1 (i), which possess one chromatin rod, though this cannot be so clearly seen as the structures during meiosis. The diploid cell must be evolved from this either by conjugation between two such cells or, what is more probable, by a division of chromosomes accompanied by a failure in cell division.

It still remains to explain the cytological appearances in free spores undergoing nuclear reorganisation in an old medium and those in certain spores germinating on a fresh medium. Reference to Figs. 3 and 4 shows that in both cases one very marked structure is the deeply staining tetrad and this, coupled with the other appearances noted at the same phase of development, again suggests meiosis. Since the spore resulting from meiosis in the vegetative cell is haploid it is unlikely that meiosis again occurs in this, since it would have to be preceded by some form of conjugation to produce a diploid condition. A possible explanation lies in the fact that some of the stainable type of cells formed spores without preliminary meiosis. In this case the spores would presumably be diploid and meiosis, repressed at spore formation, might occur either when the liberated spores were sown on to a fresh medium, or in the old medium if they were left for a longer period.

Summary.

Observations on a spore-forming bacillus by a vital-staining technique have shown that a cycle of changes in morphology and cytology takes place as the culture progresses from extreme youth to old age. At an early stage the vegetative cells are sharply differentiated into two types which subsequently follow a separate line of development, each type carrying the potentiality for spore formation. Spores are formed in several different ways, one method involving well marked nuclear reorganisation within the cell.

Liberation of granules from vegetative cells at an early stage of growth is followed by the appearance of minute rods which appear to represent a method of reproduction quite distinct from the normal one of simple fission.

There is evidence that these changes are associated with the presence of chromosomes, and structures suggestive of meiosis have been clearly seen (a) preceding one type of spore formation, (b) during the germination of some of the liberated spores when sown on to a fresh medium, (c) in some of the liberated spores in an old medium, in the so-called "resting" condition.

The main cytological changes are explained on the assumption that the normal vegetative cell is haploid and contains one chromosome. Prior to one type of spore formation a diploid cell is thought to be formed by division of the chromosome, accompanied by a failure in cell division. Meiosis then occurs, resulting in the formation of a well-marked, deeply staining tetrad, followed by separation of the chromosomes and possibly a second mitosis. One of the resultant chromosomes is involved in the formation of

the spore and the remainder appear to be extruded. The spore is thus haploid in constitution. On the other hand some spores appear to be formed from similar cells without previous meiosis, and it is thought that in these spores, which would be diploid, the meiosis which was repressed at spore formation occurs either when the liberated spores are sown on to a fresh medium or when they are left for some time in an old medium.

The authors wish to express their thanks to Professor H. Hawkins for providing facilities for photomicrography.

References.

1. Allen, L. A., Appleby, J. C., and Wolf, J., Nature. Vol. 139. 1937. p. 412. — 2. Almquist, E., Journ. Inf. Dis. Vol. 31. 1922. p. 483—493. — 3. Badian, J., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 409—418. — 4. Bayne-Jones, S., and Petrilli, A., Journ. of Bact. Vol. 25. 1933. p. 261—274. — 5. Chance, H. L., Journ. of Bact. Vol. 35. 1938. p. 347—350. — 6. Cunningham, A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 83. 1931. S. 22—32. — 7. Dobell, C., Quart. Journ. Microscop. Sci. Vol. 53. 1909. p. 579—596. — 8. Ellis, D., Iron Bacteria. London 1919. — 9. Gardner, A. D., Journ. of Pathol. and Bact. Vol. 28. 1925. p. 189—194. — 10. Haag, F. E., Arch. f. Hyg. Bd. 98. 1927. S. 271—321. — 11. Hort, E. C., Proc. Roy. Soc. B. Vol. 89. 1917. p. 468—480.— 12. Knaysi, G., Journ. of Bact. Vol. 26. 1933. p. 623—644. — 13. Lewis, I. M., Journ. of Bact. Vol. 24. 1932. p. 381—414. — 14. Lewis, I. M., Journ. of Bact. Vol. 38. 1934. p. 133—144. — 15. Löhnis, F., and Smith, N. R., Journ. of Agric. Res. Vol. 6. 1916. p. 675—702. — 16. Löhnis, F., and Smith, N. R., Journ. of Agric. Res. Vol. 23. 1923. p. 401—432. — 17. Mellon, R. R., Richardson, R. D., and Fisher, L. W., Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. Vol. 30. 1932. p. 80—82. — 18. Rettger, L. F., and Gillespie, H. B., Journ. of Bact. Vol. 30. 1935. p. 213—232. — 19. Sharp, L. W., Introduction to Cytology. New York and London 1934. p. 277—283. — 20. Stille, B., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. p. 125—148. — 21. Stoughton, R. H., Proc. Roy. Soc. B. Vol. 105. 1929. p. 469—484. — 22. Stoughton, R. H., Proc. Roy. Soc. B. Vol. 111. 1932. p. 46—52.

Explanation of Plates.

All photographs, except Figs. 1, 2, 8, and 27, are of preparations stained with neutral red chloride, using the vital staining technique. Magnifications vary from 980 to 1200.

Fig. 1. Gram's stain. 24-hour culture.

Fig. 2. Spore stain (Dorner's method). 24-hour culture.

Fig. 3. Vegetative cells in early stages of growth, showing fission.

Fig. 4. Differentiation of vegetative cells into two dissimilar types, one staining deeply, the other almost unstainable.

Fig. 5. Deeply staining, square-ended cells, resulting from rapid fission of the stainable type in Fig. 4.

Fig. 6. Granules in cells prior to spore formation.

Fig. 7. Minute granular rods which appear in the culture after several hours' incubation.

Fig. 8. Flagella stain of small granular rods obtained from a filtrate.

Figs. 9 and 10. Stages in spore formation by refractile granular type of cells, corresponding to Fig. 2, A.

Fig. 11. Stage in spore formation by method shown in Fig. 2, C.

Figs. 12—16. Stages in meiosis leading to spore formation by method shown in Fig. 2, B. The bivalent with one chiasma, the tetrad, and the separating diads are all shown in different cells.

Fig. 17. Sporulating cell with polar crescent, resulting from meiosis.

Fig. 18. Similar sporulating cells in which the crescent is dividing into two.

Fig. 19. Cells showing spores in refractile condition. More than one type may be seen.

Figs. 20—25. Free spores in an old medium showing various stages in nuclear reorganisation. In Fig. 20 most spores are still in the refractile condition with delicate

outer membrane attached. In Fig. 21 three of the spores have lost the refractile condition and are uniformly stained. In Fig. 22 three of the spores are showing an equatorial band of chromatin. In Fig. 23 the spores are showing the tetrad and double-cross structures which suggest meiosis. In Fig. 24 the chromatin has become more diffused and granular, while in Fig. 25 the spores have lost their outline and some are showing minute projections.

Figs. 26 and 27. Abnormal forms seen in a culture several days old. Fig. 27 is a nigrosine preparation.

Figs. 28—30. Bodies resembling asci, occasionally seen in old cultures.

Zum Problem der Bakterienpopulation.

[Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Karls-Universität in Prag.]

Von **J. Kořínek.**

Mit 5 Abbildungen im Text.

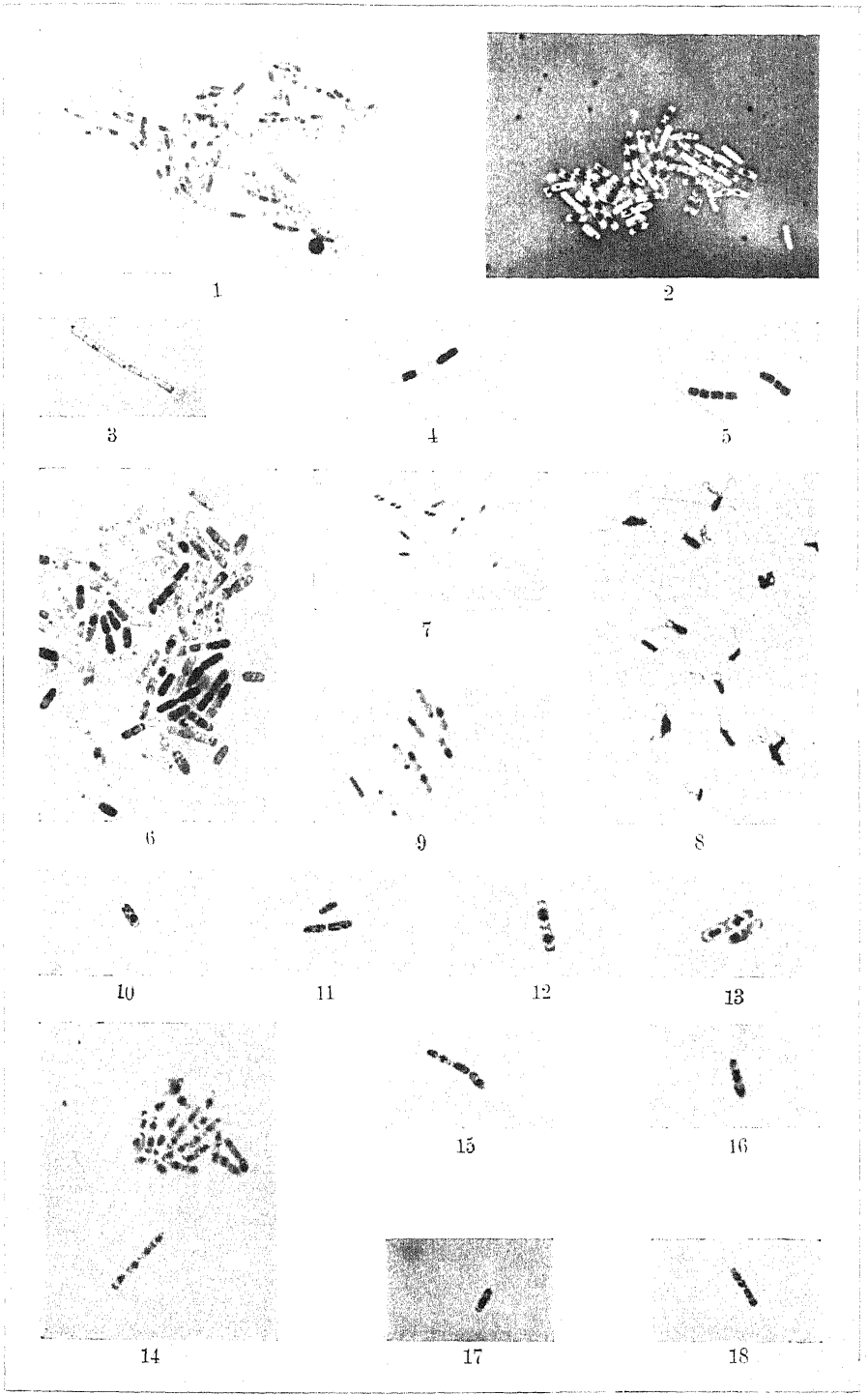
Die Arbeit berichtet über Untersuchungen zum Problem der Bakterienpopulation, die teilweise in Gemeinschaft mit meinen Mitarbeitern M. Čechurová und J. Kolačný angestellt worden sind. Die Literatur zu dieser Frage bis zum Jahre 1934 findet sich in meiner Arbeit zur Biologie der Bakterienkolonie. Von dem seit dieser Zeit erschienenen Schrifttum seien nur die Untersuchungen L. O. Koblmüllers (1936) erwähnt, von denen noch im weiteren zu sprechen sein wird.

Abhängigkeit der Koloniegröße von der Zahl der geimpften Bakterien.

Von der homogenen Aufschwemmung einer jungen Kultur des Bact. prodigiosum wurden durch Zusatz von sterilem Wasser die Verdünnungsreihen 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000 und 1 : 10 000 hergestellt. Aus jeder Reihe wurde auf die Agaroberfläche von Petrischalen in der Weise abgeimpft, daß die Spitze eines Platindrahtes zuerst in die Aufschwemmung eingetaucht und dann die Agaroberfläche mit der Spitze berührt wurde. Durch diese „Punktimpfung" erzielt man meistens regelmäßige, runde Kolonien, deren Größe durch Messung zweier senkrecht aufeinanderstehender Durchmesser festgestellt werden kann.

Tabelle I.
(Durchmesser der Kolonien in mm angegeben.)

Zahl der Tage	Konzentration 1 : 1	Konzentration 1 : 10	Konzentration 1 : 100	Konzentration 1 : 10 000
2	3,3	3,0	2,6	1,0
3	4,8	4,1	3,9	1,6
4	6,3	5,7	5,7	4,5
5	7,4	6,7	6,9	5,3
6	8,0	7,6	7,7	6,8
10	9,5	9,1	9,7	11,0
11	9,7	9,5	10,3	11,6
16	10,0	9,6	11,5	13,2

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Wie die Tabelle zeigt, ist in den ersten 4—5 Tagen die Koloniegröße der Zahl der geimpften Bakterien direkt proportional, während zu einem späteren Zeitpunkt ein umgekehrtes Verhältnis vorzuliegen scheint. K o l a č n ý hat festgestellt, daß in flüssigen Medien, die Bailsche M-Konzentration[1]) um so schneller erreicht wird, je größer die Bakterienmenge ist, mit der man impft. Die Höhe der M-Konzentration bleibt dagegen von der Menge der geimpften Mikroben unbeeinflußt.

Über die Abhängigkeit der Koloniegröße vom Alter der geimpften Mikroben.

Zur Prüfung dieser Frage wurden von 1, 7 und 14 Tage alten Kulturen Abimpfungen vorgenommen und die Größe der sich bildenden Kolonien gemessen. Aus der Tabelle ersieht man, daß von den älteren Kulturen kleinere

Tabelle 2.

Das Alter der erwachsenen Kolonien in Tagen	Das Alter der geimpften Mikroben		
	1 Tag	7 Tage	14 Tage
	Lebende Mikroben		
	600	310	10
	Durchmesser der Kolonien in mm		
2	2,4	1,4	1,2
3	4,4	3,5	3,0
4	5,5	4,6	4,0
5	6,5	5,7	5,3
6	7,7	6,8	6,6
7	8,6	7,4	7,2
14	10,9	10,1	9,7

Kolonien gebildet werden als von den jüngeren. Dieses erscheint verständlich, wenn man berücksichtigt, daß mit dem Alter der Kulturen die Zahl der lebenden Bakterien stark gesunken ist. Da die Größe der Kolonien aber nicht streng proportional der Menge der geimpften lebenden Bakterien ist, muß man annehmen, daß die wenigen Bakterien, die aus den älteren Kulturen stammen, sich wegen ihrer geringen Zahl verhältnismäßig schneller entwickeln konnten als die größere Anzahl der Bakterien, die aus der jungen Kultur abgeimpft wurden.

Koloniegröße und Viskosität des Nährbodens.

Nährbouillon, der in Abstufungen von einem halben Prozent 0,5—4proz. Agar zugesetzt war, wurde mit B a c t. p r o d i g i o s u m beimpft. Auf dem halbflüssigen Nährboden, der nur 0,5proz. Agar enthielt, hatten sich die Bakterien wie in einem flüssigen Medium sehr schnell und unregelmäßig nach allen Seiten verbreitet, so daß man kaum von Kolonienbildungen sprechen konnte. Auf allen anderen Nährböden bildeten sich typische Kolonien aus, deren Größe direkt von der Viskosität des Mediums abhing. Auf 1proz. Bouillon-Agar waren die Kolonien fast zweimal so groß wie auf 4proz.

[1]) M-Konzentration = maximale Konzentration.

Höhe der Agarschicht und Koloniegröße.

Petrischalen mit einer 4, 6, 8 und 10 mm hohen Agarschicht wurden mit gleicher Menge von Bakterien beimpft. Dabei zeigte sich, daß die Koloniegröße der Schichthöhe proportional ist. Dieses Ergebnis war nicht ohne weiteres als selbstverständlich zu erwarten, da von mehreren Autoren, besonders aber von O. Bail, festgestellt wurde, daß der Nährboden durch Bakterienkulturen weder vollkommen erschöpft noch von Stoffwechselprodukten ganz vergiftet wird, so daß nicht unbedingt mit einer Proportionalität von zur Verfügung stehendem Nährstoff und Koloniegröße zu rechnen war.

Vakzinierung von Nährböden und Koloniegröße.

Wildier hat im Jahre 1901 die Vermutung ausgesprochen, daß zur Entwicklung von Hefen sog. Bios notwendig sei. Die Existenz dieses Wuchsstoffes „Bios" ist inzwischen bewiesen, und es läßt sich vermuten, daß auch bei Bakterien irgendwelche Wuchsstoffe eine Rolle spielen. Andererseits ist vielfach festgestellt worden, daß ein schon einmal benutztes Medium zur weiteren Kultivierung von Bakterien infolge Vakzinierung weniger geeignet ist, d. h. durch irgendwelche wachstumshemmenden Stoffwechselprodukte ist eine mehr oder weniger starke Vergiftung eingetreten. Auf Grund dieser Tatsachen hat Besredka zur Gewinnung einer lokalen Immunität in die Therapie sog. Antivirus eingeführt, das eigentlich nichts anderes darstellt als eine Bakterienkulturlösung, von der die Bakterien abfiltriert wurden.

Zur Frage der Vakzinierung stellten wir folgende Versuche an: 1 ccm einer Aufschwemmung von durch Hitze getötetem Bact. prodigiosum wurden einem Bouillon-Agar zugesetzt. Der Kontrolle wurde 1 ccm steriler Bouillon zugegeben. Dann wurden die Petrischalen mit verschiedenen Bakterienkonzentrationen beimpft. Die Tabelle zeigt, daß der Zusatz von ge-

Tabelle 3.
(K = Kontrolle, P = Bact. prodigiosum zugesetzt.)

Zahl der Tage	1 : 1		1 : 10		1 : 100		1 : 1000		1 : 10 000	
	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P
2	1,6	3,0	1,1	2,0	—	0,4	—	—	—	—
5	6,7	8,5	7,7	8,0	6,0	6,5	5,0	6,4	4,4	5,5
6	8,3	10,6	9,9	10,1	7,7	8,0	6,4	8,0	6,0	6,5
7	9,4	11,2	10,3	10,7	8,9	9,4	7,9	9,0	7,2	8,9
8	10,0	11,8	10,9	11,4	9,8	10,1	9,0	9,9	8,2	9,8

töteten Bakterien das Wachstum der Kolonien deutlich gefördert hat, vermutlich haben die abgetöteten Bakterien irgendwelche wachstumsfördernden Stoffe abgegeben. In einem weiteren Versuch wurde zum Nähr-Agar getötete Bouillonkultur von Bact. prodigiosum in abgestufter Reihe zugegeben. Die Kontrolle enthielt 2 ccm normale Bouillon und 0,0 ccm getötete Bouillonkultur.

Kultur A enthielt 1,5 ccm normale Bouillon + 0,5 ccm getötete Bouillonkultur
„ B „ 1,0 „ „ „ + 1,0 „ „ „
„ C „ 0,5 „ „ „ + 1,5 „ „ „
„ D „ 0,0 „ „ „ + 2,0 „ „ „

Tabelle 4.

Zahl der Tage	Kontrolle	A	B	C	D
2	1,5	1,8	2,5	3,0	2,5
3	3,0	3,5	4,3	5,0	4,3
4	4,7	5,6	6,4	6,7	6,3
5	5,5	6,0	6,8	7,2	6,9
6	6,4	6,8	7,1	8,0	7,4
8	7,5	8,4	8,7	9,1	8,8
10	8,2	9,3	9,8	10,2	10,0

Die Tabelle gibt wieder die Koloniegröße an. In der Reihe C. d. h. also bei Zusatz von 1,5 ccm getöteter Kultur ist ein Optimum vorhanden. Man kann sich diese Tatsache unter der Annahme erklären, daß in das Nährmedium sowohl fördernder Wuchsstoff als auch wachstumshemmende Stoffwechselprodukte abgegeben worden sind und in der Reihe C das günstigste Verhältnis zwischen diesen antagonistisch wirkenden Stoffen vorlag. Die Hemmungsstoffe können dabei sowohl eine direkte giftige Wirkung ausgeübt als auch durch Viskositätsveränderungen des Nährbodens die Bakteriengröße beeinflußt haben.

Kolačný hat in einem anderen Versuch sterile Bouillonlösung mit Bact. coli beimpft. Nach 24 Std. wurden die Bakterien abzentrifugiert und die Bouillon von neuem beimpft. Dieser Prozeß wurde 11mal wiederholt. Dabei stellte sich heraus, daß nicht einmal nach der 11. Beimpfung das Medium soweit vakziniert war, daß ein Wachstum völlig unterbunden wurde, wenn auch nach vorliegenden Ergebnissen festgestellt werden muß, daß Bail in seinen Studien über die M-Konzentration den Einfluß der Vakzinierung vielleicht etwas unterschätzt hat.

Tabelle 5.

Nr. der Population	Zahl der Individuen in Millionen	Nr. der Population	Zahl der Individuen in Millionen
1	1715	7	50
2	480	8	250
3	252	9	120
4	225	10	115
5	117	11	165
6	50		

Heterovakzinierung und Koloniegröße.

Als Heterovakzinierung sei die Vakzinierung des Nährbodens mit einer anderen Mikrobenart bezeichnet als mit der, die auf dem vakzinierten Nährboden kultiviert werden soll.

Kolačný hat Bouillon mit Bact. coli vakziniert, in 8 Eprouvetten verteilt, jede mit einem anderen Bakterium beimpft und die M-Konzentration festgestellt. Das Ergebnis ist aus der Tabelle 6 zu ersehen. Mit Ausnahme von Bact. pyocyaneum wirkte die Heterovakzinierung auf alle Bakterien wachstumshemmend.

Tabelle 6.

Kultiviertes Bakterium	M-Konzentration normale Bouillon in Millionen	M-Konzentration „Coli"-Bouillon in Millionen
Staphylococcus albus	153	100
Micrococcus ochraceus	363	18.3
Streptococcus lactis	1166	81.3
Flavobacterium lactis	55.6	32
Streptococcus haemolyticus	117,3	2.9
B. faecalis alcaligenes	70.6	32.9
B. pyocyaneum	343	786
Staphylococcus aureus	2050	82

M. Čechurová hat zur gleichen Frage noch folgenden Versuch unternommen. Sie überdeckte die Agarschicht einer Petrischale mit Filtrierpapier und impfte Schimmelpilze darauf. Die erwachsenen Kolonien wurden mit dem Papier beseitigt, der Agar sterilisiert und mit Bact. prodigiosum beimpft. Dabei stellte sich heraus, daß Penicillium glaucum und Aspergillus oryzae wachstumshemmend, Aspergillus niger wachstumsfördernd wirkten. In einem weiteren Versuch fand Čechurová, daß Zugabe von Bact. coli, Sarcina lutea und Bact. pyoceaneum auf das Wachstum von Bact. prodigiosum fördernd wirken. Die Resultate sind also durchaus nicht eindeutig, was auch nicht verwunderlich erscheint, da von den einzelnen Mikroben sicherlich verschiedene Stoffe abgegeben werden.

Bails Raumtheorie.

Nach Bails Theorie bedarf jedes Bakterium, um sich vermehren zu können, neben einer genügenden Menge von Nährstoffen eines gewissen Raumes. Auf diese Weise kann man sich die sog. M-Konzentration erklären. Einige Autoren haben diese Theorie bestätigt, andere dagegen abgelehnt. Kohlmüller schreibt z. B.: „Die sog. ‚Raumtheorie' Bails widerspricht der Erfahrung und ist im vollen Umfang aufzugeben". Weiterhin betont er, daß die Tatsachen, welche die Aufstellung der Theorie veranlaßten, einer weiteren Untersuchung bedürfen. Daß Kohlmüller zu anderen Ergebnissen als Bail kam, ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß er mit festen Nährböden arbeitete, für die wahrscheinlich andere Gesetze gelten als für flüssige Nährmedien, wie schon Bail selbst erklärt hat. Kolačný konnte nämlich für Nährlösungen die Resultate Bails bestätigen. Als wichtigstes Ergebnis seiner Versuche sei hervorgehoben, daß die Höhe der M-Konzentration der Nährstoffmenge proportional ist, d. h. in zweimal verdünnter Bouillon ist die M-Konzentration zweimal niedriger als in normaler Bouillon.

Normale Bouillon %	Zusatz von Wasser %	M-Konzentration von B. coli im ccm
100	0	$2100 \cdot 10^6$
75	25	$1566 \cdot 10^6$
50	50	$1033 \cdot 10^6$
25	75	$550 \cdot 10^6$

Es besteht die Möglichkeit, daß die Nährstoffmenge nicht unmittelbar für die Zahl der Bakterien maßgebend ist, sondern daß eine indirekte Beeinflussung derart besteht, daß die giftigen Stoffwechselprodukte durch die organische Substanz paralysiert werden. Verf. konnte z. B. in früheren Arbeiten (1936, 1937) das Nährmedium durch Zusatz von organischer Substanz sozusagen entgiften.

Eine zweite Erklärungsmöglichkeit ist vielleicht mit Hilfe der Langmuirschen Adsorptions-Isotherme gegeben. Pepton- bzw. Proteinpartikel sind stark lyophil und daher durch Wasser in kolloidaler oder echter Lösung gehalten, woraus die Bakterien sie nur durch Adsorption gewinnen können. Für solche Systeme gilt die Adsorptions-Isotherme Langmuirs, die durch die Gleichung $n = \frac{z \cdot w \cdot c}{1 + w \cdot c}$ dargestellt wird:

n gibt die Zahl der auf der Oberfläche des adsorbierenden Körpers besetzten Stellen an, z ist gleich der Zahl aller möglichen Stellen, c ist gleich der Konzentration der Partikel in der Lösung, während w die für jede adsorbierende Substanz spezifische Adsorptionskonstante darstellt.

Zugunsten der Vermutung, daß die M-Konzentration durch die Langmuirsche Gleichung bestimmt wird, spricht die Tatsache, daß Zugabe von Zucker M erhöht. Der Zucker erniedrigt nämlich die Lyophilie der im Wasser gelösten Peptonteilchen. An eine rein chemische Wirkung als Nährstoff ist in diesem Fall wahrscheinlich nicht zu denken.

In normaler Bouillon beträgt die M-Konzentration 2—3 Milliarden in 1 ccm. Stellt man sich, der Einfachheit halber, einen Staphylokokkus als einen Würfel mit einer Kantenlänge von 1 μ vor, so haben in 1 ccm eine Billion Staphylokokken Platz. Daraus ergibt sich, daß auch bei der M-Konzentration der zur Verfügung stehende Raum bei weitem nicht völlig mit Bakterien ausgefüllt ist.

Über einen sonderbaren Fall der Mikrobendissoziation.

Bei Versuchen zur Biologie der Bakterienkolonie wurde auf einer Agarplatte ein Erdbazillus gefunden, der eigentümliche Kolonien bildete. Der Bazillus wuchs auf gewöhnlichem Bouillon-Agar ziemlich schnell und bildete typische S-Kolonien; eine nähere Bestimmung unterblieb. Nach etwa 3—4 Tagen entstanden an einer Stelle des Randes der bisher glatten, runden

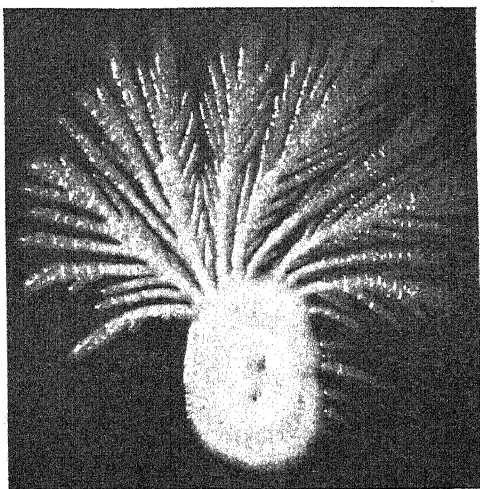
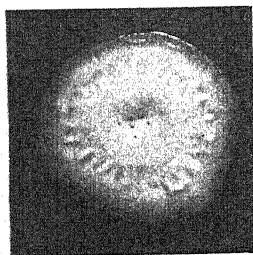



Abb. 1. Links Kolonie 4 Tage alt. Rechts Kolonie 7 Tage alt.

Kolonie federartige Auswüchse, und der Bazillus begann in R-Form zu wachsen.

In einer früheren Arbeit (1932) stellte ich fest, daß Mycobacterium tuberculosis poikilothermorum Friedmann auf Bouillon-Agar mit 4% Glyzerin S-Kolonien, mit 20% Glyzerin aber R-Kolonien bildet. Durch chemische Wirkung ließ sich also die S- in die R-Form umwandeln. Diese Tatsache gibt uns eine Erklärungsmöglichkeit für den vorliegenden Fall einer Chimären-Kolonie. Man kann sich vorstellen, daß der Bazillus an den Nährboden Stoffwechselprodukte abgegeben hat, unter deren Einfluß sich das Wachstum nach 3—4 Tagen veränderte.

Mischkulturen.

Mischkulturen wurden auf die Weise hergestellt, daß von einem in steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmten Gemisch von 2 oder 3 Arten Abimpfungen vorgenommen wurden. Das gegenseitige Verhältnis der einzelnen Arten gestaltete sich dabei selbstverständlich verschieden. Wirkte eine Art sehr stark

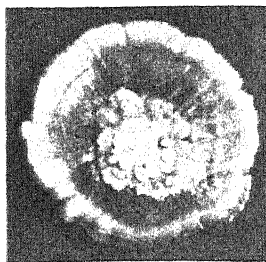



Abb. 2.

Abb. 3.

Abb. 2. Von der Mitte aus gesehen: 1) Mycobact. Friedmann, 2) Mycobact. Pellegrini, 3) Sarcina lutea.

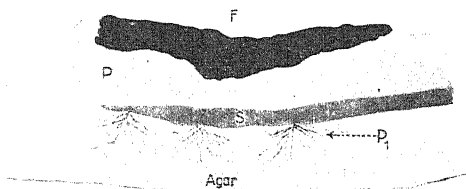



Abb. 3. F = Mycobact. Friedmann, P = Mycobact. Pellegrini, P_1 = „Rhizoiden" von Mycobact. Pellegrini, S = Sarcina lutea.

antagonistisch auf die andere, so kam es zu vollkommener Unterdrückung derselben (s. auch Kořínek 1934). Standen die Bakterien dagegen hinsichtlich ihrer Entwicklungskraft in einer Art Gleichgewicht, so lebten sie wie in einer Symbiose zusammen. Man kann zwei derartige Fälle von Symbiosen unterscheiden, und zwar eine horizontale und eine vertikale. Als horizontale Symbiose sei der meistens zu beobachtende Fall bezeichnet, daß die verschiedenen Bakterienarten nebeneinander leben. Bei vertikaler Symbiose leben bzw. liegen die einzelnen Arten aufeinander. Hierfür sei ein Beispiel beschrieben. Eine Mischung von Sarcina lutea, dem weißlichen Mycobact. tuberculosis poikilothermorum Friedmann und dem roten Mycobact. Pellegrini wurde auf Agar geimpft. Sarcina lutea bildete eine große Kolonie, auf dieser wuchs Mycobact. Pellegrini als kleinere Sekundärkolonie, welche wiederum von einer noch kleineren Tertiärkolonie des Mycobact. Friedmann teilweise bedeckt war. Von oben sah man also in der Mitte einen weißen Kern (Mycobact. Friedmann), umgeben von einem roten Ring (Mycobact. Pellegrini), der wiederum von einem größeren gelben Rand (Sarcina lutea) eingeschlossen war.

Um die inneren Verhältnisse dieses komplizierten Gebildes untersuchen zu können, wurde es von meinem Mitarbeiter P. F. Milovidov in Paraffin eingebettet, nachdem es zuvor mit gelöstem Agar sorgfältig übergossen und mit einer Mischung von Sublimat und Essigsäure fixiert war. Dann wurden Längsschnitte hergestellt, die mit Heidenhains Haematoxylin, Karbolfuchsin und Lichtgrün gefärbt wurden. Abb. 3 zeigt im Schema als oberste Schicht Mycobact. Friedmann, dann folgen Mycobact. Pellegrini und, zu unterst, Sarcina lutea. Letztere wird von Mycobact. Pellegrini durchdrungen, das im Agar eine Art „Rhizoiden" bildet. Die Fäden dieser „Rhizoiden" werden vielleicht von einer speziellen Form gebildet, welche die Rolle von Haustorien übernimmt und einen geringeren Sauerstoffbedarf hat als die normale Form.

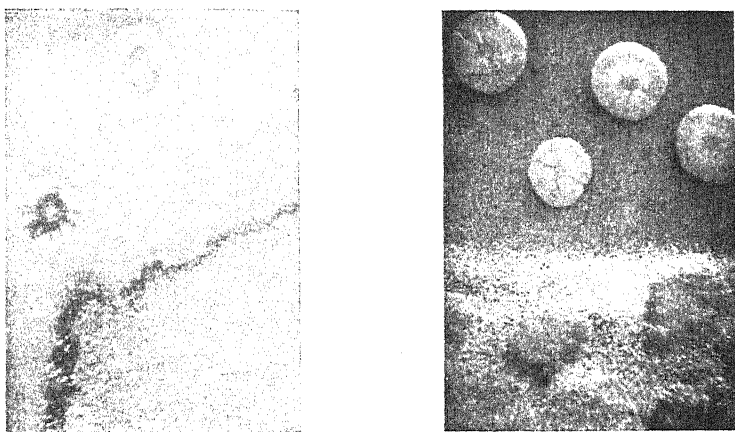



Abb. 4. Links „Sand"- und „Normal-Agar"-Kultur von Bact. prodigiosum. Rechts „Sand"- und „Normal-Agar"-Kultur von Sarcina lutea.

Sandkulturen.

Die Agaroberfläche von Petrischalen wurde mit feinem sterilen Seesand bestreut und dann beimpft. Bald wuchsen auf der ganzen Fläche Bakterien, auch wenn es sich um Mikroben handelte, die sonst nur langsam wachsen und keine großen Kolonien bilden, so wurde z. B. Bact. prodigiosum auf diese Weise zur Bildung von Riesen-Kolonien veranlaßt. Es ist dabei bemerkenswert, daß nur die bestreute Fläche bewachsen wurde, außerhalb derselben war nur normales Wachstum festzustellen. Auch Mycobakterien (Mycobact. Friedmann, Mycobact. Pellegrini, Mycobact. smegmatis), die sich normalerweise besonders langsam entwickeln, wuchsen zu großen Kolonien aus, und man könnte dieses Verfahren vielleicht praktisch zur Kultur langsam wachsender Bakterien anwenden. Es handelt sich dabei offenbar um dieselbe Erscheinung, die wir im Jahre 1934 bei „Glasrandkulturen" beobachteten. Die an den Sandkörnern adsorbierte Flüssigkeit spielt dabei sicherlich eine große Rolle, wenngleich wir diese Tatsache nicht als ausschließliche Ursache des stärkeren Wachstums ansehen.

Nicht alle Bakterien verhalten sich bei „Sandkultur" gleich, z. B. bildet Sarcina lutea normalerweise S-Kolonien, die sich in der Größe nicht

sehr von denen des Bact. prodigiosum unterscheiden. Während aber letzteres auf Sand sich über die ganze Oberfläche ausbreitet, wächst Sarcina lutea auf diesem Medium zwar auch nicht so regelmäßig wie auf normalem Agar, erreicht aber bei weitem nicht eine solche Ausdehnung wie Bact. prodigiosum. Man kann daraus vielleicht den Schluß ziehen, daß die S-Form der Sarcina lutea-Kolonien stabiler ist als die von Bact. prodigiosum.

Möglicherweise läßt sich die Sandkultur auch zu einer Methode ausbauen, mit der man die Formstabilität von Kolonien messen kann.

Rein-Agarkultur.

Um die Ansprüche verschiedener Bakterien an die benötigte Nährstoffmenge feststellen zu können, wurde folgender Versuch angestellt: gewöhnlicher Agar wurde in destilliertem Wasser gelöst, sterilisiert und in Tropfen auf Bouillon-Agar in Petrischalen gegossen. Die Tropfen verbreiteten sich mehr oder weniger stark und erstarrten bald in Halbkugelform. Am Rande der erstarrten Tropfen wurde nun geimpft, so daß die Bakterien sowohl die Möglichkeit hatten, auf dem Bouillon- wie auch auf dem reinen Agar zu wachsen. Dabei ist zu bemerken, daß der sog. reine Agar noch Spuren von Stickstoff enthält; denn nach Zusatz von Saccharose und Mineralsalzen stellt er einen guten Nährboden für oligonitrophile Mikroben dar (Kořínek 1932). Weiterhin wird bei unserer Versuchsanstellung wahrscheinlich eine kleine Menge von Nährstoffen aus dem Bouillon-Agar in den Agar diffundiert sein, so daß mit einem geringen Nährstoffgehalt des letzteren zu rechnen ist.

Abb. 5. Kolonie von Bact. prodigiosum auf „reinem" Agar.

Einige Bakterien, z. B. Bact. prodigiosum, bildeten auf diesem „reinen" Agar 3—5 cm breite Kolonien, die nur etwa 0,5 cm auf den Bouillon-Agar übergriffen. Eine Erklärung für dieses Verhalten kann nicht gegeben werden.

Zusammenfassung.

1. In den ersten 4—5 Tagen hängt die Koloniegröße direkt von der Menge der geimpften Mikroben ab.

2. Von alten Kulturen entstehen bei Abimpfungen kleinere Kolonien als von jungen.

3. Viskosität des Nährbodens fördert die Koloniegröße.

4. Die Koloniegröße ist proportional der Agarschicht, auf der die Kolonie wächst.

5. Vakzinierung bis zu einem gewissen Grade fördert das Wachstum. Bei stärkerer Vakzinierung tritt Hemmung ein.

6. Eine elfmal wiederholte Vakzinierung war nicht imstande, Bakterienwachstum vollkommen zu unterbinden.

7. Heterovakzinierung kann auf die Bakterien sowohl fördernd als auch hemmend wirken.

8. Es wird vermutet, daß Langmuirs Adsorptions-Isotherme für die Erreichung der Bailschen M-Konzentration maßgebend ist.

9. Die Chimären-Kolonie eines Erdbazillus wird beschrieben.

10. Bei Mischkulturen sind Antagonismus und Symbiose möglich, letztere in horizontaler und vertikaler Form.

11. Es wird eine vertikale Symbiose von drei aufeinanderwachsenden Bakterien beschrieben, wobei ein Bakterium mittels „Rhizoiden“ im Nährboden wurzelt.

12. Sandkulturen beschleunigen das Wachstum der Kolonien.

13. Eine Methode zur Prüfung des Nährstoffbedarfs von Bakterien wird vorgeschlagen.

Literaturverzeichnis.

1. Bail, O., O možnosti a základech pokusné nauky populační. (Čas. čes. lék. 1927.) — 2. Čechurová, M., O vlivu některých činitelů na velikost bakteriálních kolonii. Public. fac. d. sciences univ. Charles Prague. Dissertation. — 3. Koláčný, J., Studium populačních problémů ve zkumavce. Dissertation. — 4. Koblmüller, L. O., Beitrag zur Kenntnis der Wechselbeziehungen zwischen Bakterienvermehrung und Umwelt. (Ztschr. f. Hyg. u. Infek. Bd. 118. 1936.) — 5. Kořínek, J., Über oligonitrophile Mikroben im Meere. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 86. 1932.) — 6. Kořínek, J., La dissociation chez les Mycobacteria. (Preslia. XI. 1932.) — 7. Kořínek, J., Zur Biologie der Bakterienkolonie. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 91. 1934.) — 8. Kořínek, J., Über die Mikroflora eines natürlichen Kupferbodens. (Vest. Král. Sp. N. 1936.) — 9. Kořínek, J., Ein Beitrag zum Problem der Antisepsis. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 96. 1937.)

Über Lebensdauer, Wirksamkeit und Leistung der Sojaknöllchenbakterien.

[Institut für landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn.]

Von **W. Riede** und **H. Bucherer.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Mit den vorliegenden Untersuchungen sollte die Frage geprüft werden, ob die Knöllchenbakterien der Sojabohne auch bei längerer Lagerung der Wurzelknöllchen ihre Lebensdauer, Wirksamkeit und Leistung erhalten können. Die hierzu verfügbaren Pflanzen entstammen dem Versuchsstück des Botanischen Gartens der Landwirtschaftlichen Hochschule Bonn-Poppelsdorf. Sie wurden im Sommer 1920 geerntet, wobei zur Schonung des Wurzelbesatzes und des starken Knöllchenbefalls die einzelnen Pflanzen samt Wurzeln vorsichtig ausgegraben wurden. Die abgetrennten Wurzeln wurden hierauf sorgfältig von anhaftenden Bodenresten gereinigt, abgespült, getrocknet und dann in Gläsern vor Luft und Licht geschützt aufbewahrt. Trotz dieser vorsorglichen Behandlung und Aufbewahrung zeigten später einige Wurzeln deutlichen Schimmelpilzbefall und einige Knöllchen waren geplatzt. Der größte Teil des gesammelten Materials blieb aber gut erhalten, so daß die geplanten Versuche erstmals nach 10jähriger Lagerung der Knöllchen durchgeführt werden konnten. Diese erste Prüfung ergab, daß die Knöllchenbakterien die jahrelange Aufbewahrung ohne Schaden und ohne Einbuße ihrer Wirksamkeit überstanden hatten. Dieses Versuchsergebnis bestätigte somit die bekannte Tatsache, daß selbst empfindliche Bakterien bei Antrocknung und Aufbewahrung in organischem Material lebens- und ent-

wicklungsfähig bleiben. Wie z. B. krankheitserregende Bakterien in getrockneten Organen aufgehoben werden können, so lassen sich hiernach auch die Sojabohnen-Knöllchenbakterien in den Wurzelknöllchen gleichsam konservieren.

Zur Durchführung dieser Prüfung wurden die 10 Jahre aufbewahrten Wurzelknöllchen zunächst in Wasser gründlich gewaschen, dann kurz in 0,3proz. Sublimatlösung verbracht und hierauf mit sterilem Wasser abgespült. Anschließend wurden die Knöllchen kurz in 96proz. Alkohol gelegt, leicht abgetrocknet und hierauf vorsichtig durch die Flamme gezogen. Die auf diese Weise behandelten Knöllchen wurden in einer sterilen Petrischale unter aseptischen Kautelen zerdrückt und auf Mannitagar folgender Zusammensetzung übertragen: 2proz. Mannitagar mit je 0,03% Magnesium- und Dikaliumphosphat-Zusatz. Die so angelegten Kulturen verblieben einige Tage im Thermostaten bei 30°. Gleichzeitig wurden analoge Kulturen aus frischen Sojabohnenknöllchen angelegt, um etwaige Unterschiede zwischen den Alt- und Jungbakterien, z. B. hinsichtlich der Wachstumsintensität oder der Kolonienform und -größe usw., festzustellen.

Die vergleichende Prüfung der Alt- und Jungbakterienkulturen ergab nun folgendes: Nach wenigen Tagen hatten sich auf den Kulturplatten der Alt- wie Jungbakterienaussaat die typischen, weißlichen, Schleimtropfen gleichenden Kolonien der Sojaknöllchenbakterien entwickelt. Was zunächst die Zahl der von den Alt- bzw. Jungbakterien angegangenen Kolonien anbetrifft, so waren die Kulturplatten der Jungbakterien viel dichter bewachsen als jene der Altbakterien. In Anbetracht der 10jährigen Lagerung darf dies aber nicht verwundern: erstaunlicher ist vielmehr, daß trotz der langen Trockenlagerung immerhin noch eine große Zahl von Altbakterien lebens- und entwicklungsfähig waren, so daß sie bei der Übertragung auf das künstliche Nährmedium unter Bildung der charakteristischen Kolonien heranwuchsen. Freilich war bei einigen der Altbakterienkolonien ein Größenunterschied gegenüber den Jungbakterienkolonien festzustellen, die im allgemeinen üppiger in Erscheinung traten. Beim Versuch, die so gewonnenen Reinkulturen der Jung- und Altbakterien auf künstlichem Substrat fortzuzüchten, zeigten sich weiterhin gewisse Unterschiede in der Wachstumsintensität, indem manche Abimpfungen von Altbakterien die Weiterzüchtung nicht mehr ermöglichten, während die Jungbakterien ausnahmslos und üppig fortkultiviert werden konnten. Dennoch ließen sich auch zahlreiche Altbakterienkolonien auf neues Nährsubstrat übertragen und fortlaufend weiterzüchten.

Hatten die vorbeschriebenen Versuche eindeutig ergeben, daß selbst nach 10jähriger Aufbewahrung getrockneter Wurzelknöllchen der Sojabohne diese noch zahlreiche lebens- und entwicklungsfähige Knöllchenbakterien enthalten können, die sich größtenteils auch auf künstlichem Nährsubstrat fortzüchten lassen, so sollte in weiteren Versuchen geprüft werden, ob diese Knöllchenbakterien trotz der 10jährigen Trockenaufbewahrung auch noch zur Knöllchenbildung an frischen Sojapflanzen und hierbei auch noch zur Bindung des Luftstickstoffs befähigt seien. Um diese Frage zu prüfen, wurde eine größere Zahl von künstlichen Impfversuchen in verschiedener Weise durchgeführt, wozu sowohl ganze Knöllchenmassen, als auch Roh- und Reinkulturen der 10 Jahre alten Knöllchenbakterien verwendet wurden. Die gewählte Versuchsanordnung war folgende:

Als Nährsubstrat wurde eine Erde, d. h. eine stickstoffarme Mischung aus Sand und nährstoffarmem, kalkhaltigem Lehm verwendet. Da in der deutschen Erde die Sojarasse des Bact. radicicola natürlicherweise nicht vorkommt, konnte von einer Sterilisierung dieses Substrates abgesehen werden. Zur Sicherung dieser Versuchsanordnung wurden aber auch stets ungeimpfte Vergleichspflanzen hochgezogen, welche niemals irgendwelchen Knöllchenbesatz aufwiesen, was hier schon angegeben sei.

Die verwendeten Sojabohnensamen wurden von etwa anhaftenden Keimen durch ein Sublimatbad befreit. Die Erde wurde reichlich mit Kali und Phosphorsäure gedüngt; es wurde eine Düngung von 80 kg/ha K_2O und 60 kg/ha P_2O_5 zugrunde gelegt. Peinlich wurde ferner darauf geachtet, daß nicht Bakterien der einen Versuchsreihe auf die andere, von einem Topf auf den anderen, von einem Versuchsstück auf das andere übertragen wurden. Stets wurde Samenimpfung angewendet.

Über die Ergebnisse von 5 derartigen Versuchsserien berichten die nachfolgenden Tabellen:

Versuch 1.

Sojasorte Schwarz — Matt.

Topfversuch: Je Versuchsserie 5 Töpfe mit je 6 Pflanzen.

Versuchsreihe	Knöllchenzahl	Gesamtertrag Frischgewicht g
Ungeimpft	—	219
Geimpft mit alten Knöllchen	72	403
Geimpft mit jungen Knöllchen	183	456

Nach 10 Wochen wurde der Versuch, bei dem sich die geimpften Pflanzen durch dunkelgrüne Färbung und üppigeren Wuchs auszeichneten, geerntet. Die alten Bakterien hatten bedeutend weniger Knöllchen hervorgerufen; ihre Wachstumsförderung war jedoch erheblich.

Versuch 2.

Sojasorte Schwarz — Glänzend.

Topfversuch: Je Versuchsseite 5 Töpfe mit je 6 Pflanzen.

Alte und junge Knöllchen, die in der angegebenen Weise (Waschung, Sublimatbad usw.) vorbehandelt worden waren, wurden mit dem Messer zerkleinert, verrieben und auf Mannit-Agarplatten übertragen.

Im weiteren Verlaufe kamen auf einigen Mannit-Agarplatten, die mit den alten Knöllchen beimpft worden waren, neben den für Bacterium radicicola typischen Kolonien auch solche von Sporenbildnern zur Entwicklung. Die Reinkultivierung der Sojabakterien aus den alten und jungen Knöllchen wurde durch mehrmalige Plattenpassage unter mikroskopischer und kultureller Kontrolle durchgeführt. Mit Aufschwemmungen der Erstkulturen sowie der gewonnenen Reinkulturen der alten und jungen Knöllchen wurden die vorher keimfrei gemachten Samen geimpft.

Versuchsreihe	Knöllchenzahl	Gesamtertrag Frischgewicht g
Ungeimpft	—	276
Geimpft mit Rohkultur aus alten Knöllchen	68	463
Geimpft mit Reinkultur aus alten Knöllchen	77	475
Geimpft mit Rohkultur aus frischen Kulturen . . .	190	509
Geimpft mit Reinkultur aus frischen Knöllchen . . .	181	492

Auch diese Ergebnisse beweisen, daß die 10 Jahre der Ruhe oder Starre die Bakterien kaum beeinträchtigt hatten. Zwar war die Angriffskraft etwas geringer, aber die Fähigkeit zur Stickstoffbindung hatte in keiner Weise gelitten.

Versuch 3.

Gefäßversuch mit der Sojasorte Schwarz — Matt, je Versuchsreihe 20 Gefäße mit 7 Pflanzen.

Durchschnittliche Leistung je Gefäß.

Versuchsreihe	Hülsen-zahl	Körner-zahl	Einzelkorn-gewicht	Korn-ertrag g	Stroh-ertrag g
Ungeimpft	84	132	0,08	10,6	35,3
Geimpft mit Altbakterien	127	239	0,15	35,9	67,8
Geimpft mit Jungbakterien	133	238	0,16	38,1	70,2

Die Versuche wurden bei Vollreife abgeschlossen. Eine Knöllchenzählung war nicht mehr möglich: eine Vorprüfung ergab aber Knöllchenfreiheit der Kontrollen und guten Knöllchenansatz der geimpften Pflanzen. In dem stickstoffarmen, reichlich mit Kali, Phosphorsäure und Kalk versorgten Boden bewirkten die Knöllchen Steigerung von Korn- und Strohertrag, Vermehrung von Hülsen- und Körnerzahl sowie Förderung des Einzelkorngewichtes. Die Wirkung der Altbakterien-Reinkultur war kaum geringer als die der Jungbakterien-Reinkultur.

Versuch 4.

Sojasorte Schwarz XI.

Je Versuchsreihe 4 Töpfe mit je 5 Pflanzen.

Versuchsreihe	Knöllchenzahl	Gesamtertrag Frischgewicht g	Hülsenzahl
Ungeimpft	—	253	57
Geimpft mit Reinkultur aus alten Knöllchen	23	341	102
Geimpft mit Reinkultur aus jungen Knöllchen	116	408	134

Die Ernteergebnisse jeder Reihe (20 Pflanzen) bewiesen wiederum die etwas verringerte Wirksamkeit der Altkultur (Reinkultur aus alten Knöllchen) und die erhaltene Fähigkeit zur Stickstoffbindung. Der Versuch wurde abgebrochen, nachdem die ersten Hülsen eine Länge von etwa 3 cm erreicht hatten (Aussaat Anfang Juni, Ernte Anfang August).

Versuch 5.

Sojasorte Gelb — Hell.

Topfversuch: Je Versuchsreihe 5 Töpfe mit je 5 Pflanzen.

Versuchsreihe	Knöllchenzahl	Gesamternte Frischgewicht g
Ungeimpft	—	137
Reinkultur der Altbakterien	37	169
Reinkultur der Jungbakterien	145	255
Knöllchenimpfung 1. Passage der Altbakterien	154	253
Knöllchenimpfung 1. Passage der Jungbakterien . . .	139	240

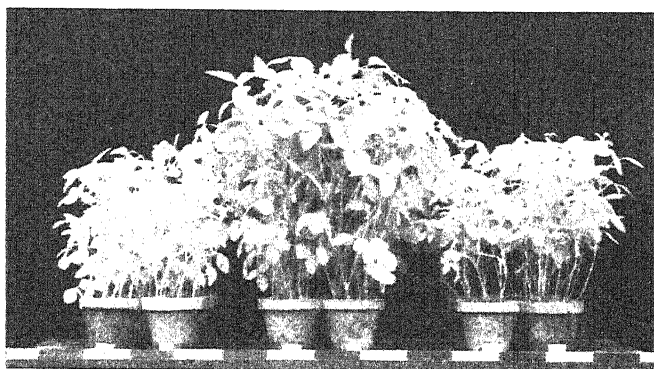
Diese Untersuchungen lieferten somit den Beweis, daß die alten Bakterien nach einer Pflanzenpassage ihre volle Wirksamkeit wieder erhalten hatten. Die zur Blütezeit vorgenommene Ernte ließ erkennen, daß die Knöllchenzahl der Altbakterien nun die unter den gegebenen Bedingungen zu erwartende Höhe aufwies. Die Reinkultur der Altbakterien war aber nicht so wirksam wie die Reinkultur der Jungbakterien. Die Tatsache jedoch, daß auf dem sehr stickstoffarmen Boden die ungeimpften Pflanzen — im Gegensatz zu den geimpften — hellgrün blieben und auch nur eine geringe Erntemasse lieferten, stellte von neuem die aktive Stickstoffleistung der Wurzelknöllchen fest.

1 ungeimpft — 2 Radicinimpfung — 3 Altkulturimpfung

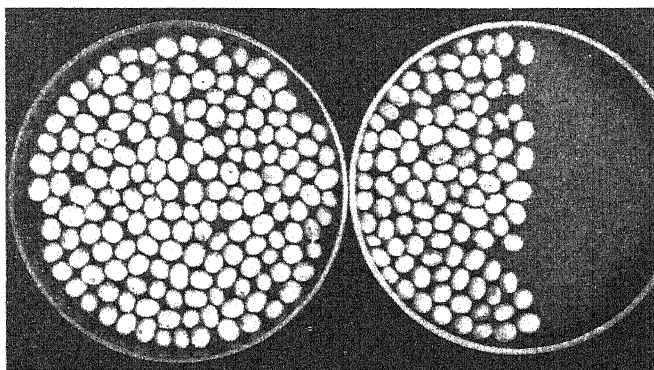
Abb. 1.

geimpft — ungeimpft

Abb. 2. Körnerernte eines Topfes.

Nach 5jähriger Pause wurden die Untersuchungen und Versuche fortgesetzt. Inzwischen hatten die 1920 gesammelten Wurzeln mit ihren Knöllchen weitere 5 Jahre unter den stets gleichbleibenden Umweltbedingungen der Ruheperiode gestanden. Die Untersuchungen an den 15 Jahre alten Knöllchenbakterien wurden auf folgende Weise durchgeführt:

Versuche 1935.

Der zu den Topfversuchen verwandte Boden war wie bei den Versuchen im Jahre 1930 eine Mischung aus Sand und kalkhaltigem, stickstoffarmem Lehm. Auch wurde die Samendesinfektion und Samenimpfung in gleicher Weise wie früher durchgeführt. Bei den Topf- und Feldversuchen wurde wiederum eine Düngung von 80 kg/ha K_2O und 60 kg/ha P_2O_5 in Anwendung gebracht. Bei den Freilandversuchen wurde besonders darauf geachtet, daß beim Hacken keine unerwünschte Infektion vorkam. Die geimpften Kontrollen wurden stets mit frischen Radicin-Kulturen behandelt.

Versuch 6.

Sojasorte Hellgelb.

Gefäßversuch: Je Reihe 10 Gefäße mit je 7 Pflanzen.

Versuchsreihe	Knöllchenzahl	Gesamtertrag Frischgewicht g
Ungeimpft	—	304
Geimpft mit Rohkultur aus 15 Knöllchen	168	510
Geimpft mit frischer Radicin-Reinkultur	583	892

Aussaat: 3. Mai. Ernte: 2. Juli.

Färbung und Wuchs waren innerhalb der Reihen sehr einheitlich. Dunkelgrün und mächtig die mit Radicin geimpften, grün und mittelhoch die mit den alten Bakterien geimpften Pflanzen, gelbgrün und klein die ungeimpften Kontrollen. Die Fähigkeit, Knöllchen zu erzeugen, schien im Laufe der weiteren 5 Ruhejahre wiederum etwas nachgelassen zu haben. Neben dem Rückgang der Wirksamkeit lag allem Anschein nach aber auch ein Rückgang der Leistung — der Fähigkeit der Stickstoffbindung — vor.

Versuch 7.

Sojasorte Gelb — Grünnablig.

Je Versuchsreihe 10 Töpfe mit je 5 Pflanzen.

Saat: 16. 7.; Ernte: 18. 10.

Versuchsreihe	Pflanzen ohne Knöllchen			Pflanzen mit Knöllchen			Summe		
	Pflanzenzahl	Gesamtertrag in Gramm	Hülsenzahl	Pflanzenzahl	Gesamtertrag in Gramm	Hülsenzahl	Pflanzenzahl	Gesamtertrag in Gramm	Hülsenzahl
Ungeimpft	50	259	94	—	—	—	50	259	94
Geimpft mit Reinkultur aus alten Knöllchen	18	85	37	32	379	123	50	464	160
Geimpft mit frischer Radicin-Reinkultur	6	31	14	44	483	179	50	514	193

Durchschnittliche Einzelpflanzenleistung aus Versuch 7.

Versuchsreihe	Pflanzen ohne Knöllchen		Pflanzen mit Knöllchen		Sämtliche Pflanzen	
	Gesamtertrag g	Hülsenzahl	Gesamtertrag g	Hülsenzahl	Gesamtertrag g	Hülsenzahl
Ungeimpft . . .	5,10	2,75	—	—	5,10	2,75
Geimpft mit Reinkultur aus alten Knöllchen . .	4,72	2,30	11,84	3,84	9,28	3,20
Geimpft mit frischer Radicin-Reinkultur . .	5,16	2,21	10,97	4,06	10,28	3,86

Auch aus diesem Versuch geht hervor, daß die Wirksamkeit der alten Bakterien geringer ist als die normaler Frischkulturen; gegenüber der Rohkultur des Versuches 6 war aber bereits ein Zunehmen der Wirksamkeit zu beobachten. Die Stickstoffleistung der Altbakterien erwies sich als normal. In diesem Versuch trat schon während der Entwicklung ein auffallender Unterschied zwischen den einzelnen Pflanzen der Impfreihen zutage, so daß die Vermutung auftauchte, daß Pflanzen mit und ohne Knöllchen nebeneinander standen. Deshalb wurde eine genaue Prüfung auf Knöllchenbesatz durchgeführt und die Pflanzen in 2 Klassen geteilt. Bemerkenswert waren die großen Ertragsunterschiede der nebeneinander in einem Topf wachsenden knöllchenbehafteten und knöllchenfreien Pflanzen. Die Ernte wurde kurz nach der Blüte vorgenommen; die ersten Hülsen waren etwa 2 cm lang. Lebensfähigkeit, Wirksamkeit und Leistungskraft der aus den 15jährigen Knöllchen stammenden Reinkulturen waren somit bewiesen; die ursprünglich starke Schwächung der Wirksamkeit war durch wiederholtes Überimpfen wesentlich zurückgegangen, die volle Leistungsfähigkeit war erreicht.

Versuch 8.
Sojasorte Gelb — Hell.
10 Gefäße mit je 5 Pflanzen.
Impfung mit Reinkultur aus 15 Jahre alten Knöllchen.

Feststellung	Ohne Knöllchen	Mit kleinen Knöllchen	Mit großen Knöllchen
Pflanzenzahl	16	9	25
Gesamtertrag, Frischgewicht in Gramm	140	113	497
Gesamthülsenzahl	23	21	79
Durchschnittlicher Ertrag je Pflanze in Gramm	8,75	12,55	19,12
Durchschnittliche Hülsenzahl .	1,43	2,33	3,16

Dieser nach der Blüte abgebrochene Versuch ließ ebenfalls innerhalb der Gefäße wesentliche Unterschiede erkennen. Bei der Ernte wurde eine

Dreiteilung durchgeführt. Die Frischgewichte und Hülsenzahlen bewiesen, daß zur besten Entwicklung auf stickstoffarmem, kalkhaltigem Boden bei ausreichender Kali-Phosphorsäureversorgung unter den vorliegenden Bedingungen große Bakterienknöllchen notwendig waren. Kleine Knöllchen vermochten nur einen Teil des N-Mangels zu beheben. Pflanzen ohne Knöllchen blieben im vegetativen Wachstum und im Hülsensatz weit hinter den Pflanzen mit Knöllchen zurück.

Versuch 9.

Feldversuch auf stickstoffarmem sandigen Lehm.

Sojasorte Gelb — Blaß.

Je Versuchsreihe 6 Teilstücke zu je 25 qm.

Versuchsreihe	Kornertrag dz/ha	Strohertrag dz/ha	Samen bei 12% Wasser: Fett %	Eiweiß %	Fett - Eiweiß Summe %
Ungeimpft	14,23 ± 0,21	17,76 ± 0,26	19,66	26,38	46,04
Geimpft mit RK. auf alten Knöllchen.	16,09 ± 0,19	18,33 ± 0,23	19,73	27,73	47,46
Geimpft mit Azotobacter	16,17 ± 0,32	18,59 ± 0,41	19,08	28,12	47,20
Geimpft mit Radicin-Kultur . . .	18,38 ± 0,27	23,75 ± 0,33	18,60	30,25	48,85
Geimpft mit Azotobacter + Radicin-Kultur . . .	19,72 ± 0,30	26,91 ± 0,44	18,25	31,58	49,83

Wirksame und leistungsstarke Knöllchenbakterien steigerten auf stickstoffarmem Boden bei guter Versorgung mit Kalk, Kali und Phosphorsäure Kornertrag, Strohertrag und Eiweißgehalt der Samen; der Fettgehalt der Samen wurde durch die Stickstoffwirkung etwas verringert. Die Reinkulturen aus alten Knöllchen blieben hinsichtlich Knöllchenerzeugung und Stickstoffbindung hinter den normalen Reinkulturen zurück.

Der prototrophe Azotobakter hatte unter den vorliegenden Versuchsbedingungen eine etwas stärkere Wirkung als die alten Knöllchenbakterien. Bei diesem Versuch fiel auf, daß die Azotobakterwirkung früher eintrat als die Bact. radicicola-Wirkung. Die Azotobakterteilstücke waren in der Entwicklung voraus und zeigten eine dunklere Grünfärbung; später glichen die Bact. radicicola-Parzellen diese anfänglichen Unterschiede wieder aus. Die Reihe V, die sowohl unter der Frühwirkung von Azotobakter als auch unter der Spätwirkung von Bact. radicicola stand, blieb bis zur Ernte an Wuchskraft überlegen. Die Reifeverspätung durch die Stickstoffwirkung war ganz gering. Die einwandfreie — wenn auch nicht sehr starke — Überlegenheit der Pflanzen, die mit einer Reinkultur aus alten Knöllchen geimpft waren, über die ungeimpften Kontrollpflanzen hinsichtlich Knöllchenbesatz, Ertrag, Eiweißgehalt und Fett-Eiweißsumme bewies von neuem Lebensfähigkeit, Wirksamkeit und Leistungskraft.

Versuch 10.
Sojasorte Schwarz — Gelb. Boden in guter Kultur.
Je Versuchsreihe 6 Teilstücke von je 25 qm.
Düngung: 80 kg/ha K_2O, 60 kg/ha P_2O_5.

Versuchsreihe	Samen bei 12% Wasser			Schrot Eiweiß
	Fett %	Eiweiß %	Fett — Eiweiß Summe %	%
Ungeimpft	18,95	30,47	49,42	37,83
Geimpft mit Reinkultur aus alten Knöllchen	17,66	35,95	53,61	43,37
Geimpft mit frischer Radicin-Kultur . .	16,78	36,94	53,72	44,45

Die Kontrolle während der Blütezeit ergab Knöllchenfreiheit der ungeimpften Parzellen, schwachen Knöllchenbesatz der mit alten Bakterien geimpften und sehr starken Knöllchenansatz der mit Radicin geimpften Teilstücke. Korn- und Stroherträge der 3 Reihen lagen auf diesem in bester Kultur befindlichen Boden innerhalb der Fehlergrenzen. Bemerkenswert waren aber die Gehaltsunterschiede der Samen. Die Knöllchenbakterien hatten Ansteigen des Eiweißgehaltes und der Fett-Eiweißsumme bewirkt; der Fettgehalt der Samen wurde durch die Stickstoffwirkung der Bakterien etwas gedrückt.

Zu gleicher Zeit wurde auch ein Impfversuch mit Erbsen durchgeführt; Ertragsunterschiede waren hier ebenfalls nicht festzustellen. Die Radicinimpfung bewirkte aber eine Steigerung des Eiweißgehaltes der Samen von 25,69 auf 27,00%, des Stickstoffs von 4,11 auf 4,32%. Auch auf guten Kulturböden hatte sich also eine Radicinimpfung als wertvoll erwiesen.

Versuch 11.
Sojasorte Schwarz XI.
(Freilandversuch.)

Knöllchentrockenmasse			
Samenimpfung mit Reinkultur aus alten Knöllchen		Samenimpfung mit Reinkultur Radicin	
N %	Eiweiß %	N %	Eiweiß %
4,26	26,63	4,23	26,44
4,42	27,63	4,46	27,88
4,60	28,75	4,63	28,94
4,72	29,50	4,73	29,56
4,75	29,69	4,78	29,88
4,78	29,88	4,79	29,94

Der Eiweißgehalt der Knöllchentrockenmasse zeigte keine wesentlichen Unterschiede. Die geringe Differenz lag innerhalb der Fehlergrenze. Schließlich wurden noch Versuche mit der ersten Knöllchenernte nach Impfung mit den alten und jungen Bakterien durchgeführt. Die Wirksamkeit der alten

Bakterien hatte nun ihre volle Höhe wieder erreicht: die Pflanzenpassage konnte die Wirkung der Radicinkultur nicht steigern. Die Knöllchenzahlen stimmten nun überein, und zwar sowohl bei der Impfung mit zerriebenen Knöllchen, als auch bei der Impfung mit Reinkulturen der ersten Passage.

Besprechung der Ergebnisse.

Schon aus den Untersuchungen von Stapp geht hervor, daß Knöllchenbakterien in eingeschmolzenen Möhren-Agarröhrchen 16 Jahre lang Lebensfähigkeit und Wirksamkeit bewahren. Diese Feststellungen finden durch die vorliegenden Untersuchungen eine Ergänzung. Auch in eingetrockneten Knöllchen aufbewahrt, behält Bact. radicicola die Fähigkeit, aus dem latenten in das aktive Leben überzugehen, d. h. in die Wurzeln der Leguminosen einzudringen und Stickstoff zu assimilieren. Da wohl auch in dem latenten Zustand eine geringe Lebenstätigkeit besteht, ist anzunehmen, daß auch die Latenzperiode zeitlich begrenzt ist. Die Umweltbedingungen der Ruhezeit, die Gleichmäßigkeit der Verhältnisse, werden für die Länge einer unschädlichen Ruheperiode wohl von entscheidender Bedeutung sein. Die landwirtschaftliche Praxis wird jedoch trotz der Möglichkeit einer langen Ruheperiode stets mit frischen Kulturen die anzubauenden Pflanzen beimpfen, um den größtmöglichen Ertrag zu erzielen.

Zusammenfassung.

1. 15 Jahre eingetrocknete Wurzelknöllchen der Sojabohne enthalten lebensfähige Knöllchenbakterien, die, unter günstige Umweltbedingungen gebracht, aus der latenten in die aktive Lebensperiode übergehen, wenn auch die Zahl der durch Impfung mit alten Knöllchenbakterien hervorgerufenen Knöllchen geringer ist als bei Impfung mit frischen Bakterien. Auch zeigt sich manchmal beim Weiterzüchten der alten Knöllchenbakterien auf Agar eine vorübergehende Wachstumshemmung. Die Versuche beweisen jedoch übereinstimmend, daß trotz der geringen Beeinträchtigung von Angriffskraft und Wuchskraft die Fähigkeit zur Stickstoffbindung erhalten geblieben ist. Durch Pflanzenpassage wird die volle Wirksamkeit wiederhergestellt. Die mit zahlreichen Sojasorten durchgeführten Versuche lassen erkennen, daß erhebliche Unterschiede zwischen den Sorten hinsichtlich Knöllchenbefall bestehen.

2. Die Knöllchenbakterien der Sojabohne veranlassen auf stickstoffarmen, kalkhaltigen Böden bei guter Kali- und Phosphorsäuredüngung eine Förderung von vegetativem und reproduktivem Wachstum; Hülsenzahl, Körnerzahl und Einzelkorngewicht, Kornertrag und Strohertrag sind wesentlich gesteigert. Auch wird der Eiweißgehalt der Samen vermehrt, während der Fettgehalt in gleichem Maße vermindert wird. Luftstickstoffausnützung, Förderung des Eiweißgehaltes und der Eiweißmenge sind der Sojabohne, der stickstoffreiche Wurzel- und Knöllchenrückstand der Nachfrucht zum Vorteil.

Literatur.

Stapp, C., Zur Frage der Lebensdauer und Wirksamkeitsdauer der Knöllchenbakterien. (Angew. Bot. Bd. 16. 1924. S. 152.) — Stapp, C., Zur Frage der planmäßigen Erzielung hochwirksamer Leguminosen-Knöllchenbakterienkulturen. (Angew. Bot. Bd. 11. 1929. S. 197.)

Untersuchungen über pilzparasitäre Krankheiten von Raps und Rübsen.

[Aus der Dienststelle für Mykologie der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **A. Raabe.**

Mit 9 Abbildungen im Text.

Der Anbau einheimischer Ölpflanzen ist in den letzten Jahren sehr stark gefördert und gesteigert worden, wodurch in erheblichem Maße dazu beigetragen wird, den Anteil des Auslandes an unserer Fettversorgung zu mindern. Für deutsche Verhältnisse am lohnendsten ist seit je der Raps (Brassica napus L. var. arvensis [Lam.] Thell.) gewesen. Er steht deshalb auch mengen- und flächenmäßig an erster Stelle. Nach jahrzehntelangem stärkstem Rückgang des Anbaus werden jetzt wieder wachsende Flächen besonders in den Gebieten Deutschlands mit Raps bewirtschaftet, wo Boden und Klima von jeher seinen Anbau begünstigte. Auch die Kultur des nahverwandten, zwar weniger ertragreichen, aber anspruchsloseren Rübsen (Brassica rapa L. var. silvestris [Lam.] Purch. et Ley) hat Erweiterung gefunden. Insgesamt stieg die Anbaufläche von Raps und Rübsen von 5155 ha im Jahre 1933 auf 54 604 ha im Jahre 1936, also auf das 10fache (vgl. Klemm 1938). Damit wurde es notwendig, in erhöhtem Maße den Schädigungen und Krankheiten dieser Pflanzen Beachtung zu schenken. Recht hoch sind mitunter die durch Witterungsverhältnisse (Auswinterung) hervorgerufenen Ausfälle; Schadinsekten verschulden bedeutende Verluste, und in manchen Jahren gewinnen auch durch parasitische Pilze verursachte Krankheiten wirtschaftliche Bedeutung (vgl. Flugbl. 152/154 [1938] der Biol. Reichsanstalt).

Der Raps wie auch der Rübsen wird von denselben parasitischen Pilzen befallen, denen auch andere Brassica-Arten ausgesetzt sind. Ein auf Raps spezialisierter Pilz von irgendwelcher Bedeutung ist nicht bekannt. So waren bei der Inangriffnahme der Aufgabe, Krankheiten von Raps und Rübsen zu bearbeiten, weniger grundlegend neue Ergebnisse zu erwarten als vielmehr die biologischen Verhältnisse bislang weniger beachteter Parasiten zu klären und schon Bekanntes in mancher Hinsicht zu ergänzen.

Nach den monatlichen Berichten des Beobachtungsdienstes der Biologischen Reichsanstalt sind es nur wenige parasitische Pilze, die als auffallendere Schädiger in Deutschland auftreten: Alternaria brassicae (Schwärze), Sclerotinia sclerotiorum (Rapskrebs), Botrytis cinerea (Grauschimmel), seltener Plasmodiophora brassicae (Hernie) und Albugo candida (Weißer Rost). Alle anderen Parasiten waren bisher wirtschaftlich so belanglos, daß sie in den Meldungen selten genannt werden oder gar nicht in Erscheinung treten.

Die Witterung von Herbst 1937 bis zur Erntezeit 1938 war für die Raps- und Rübsensaaten fast durchweg günstig. Infolgedessen traten durch Pilze hervorgerufene Schäden nur wenig auf oder fehlten in weiten Gebieten sogar ganz. Für die geplanten Untersuchungen war dies verständlicherweise nachteilig; war es doch schwer, verwertbare Krankheitsproben zu erhalten.

1. Alternaria brassicae (Berk.) Bolle. Schwärze.

Die in manchen Jahren beträchtlichen Schaden verursachende Schwärzekrankheit, deren Erreger in der Hauptsache in Alternaria brassicae zu erblicken ist, wird schon seit einigen Jahren an der Zweigstelle der Biologischen Reichsanstalt in Kiel-Kitzeberg durch Dr. H. Pape bearbeitet. Über eigene Erfahrungen und Versuche möchte ich deshalb nur kurz berichten.

Im Herbst 1937 wurde in Schlesien von Dr. H. W. Wollenweber starker Befall durch Alternaria brassicae an Blättern junger Rübsenpflanzen und von Dr. H. Richter in Mitteldeutschland an Blättern von Stoppelrüben [Brassica rapa L. var. rapa (L.) Thell.] festgestellt. In beiden Fällen trugen die Blätter zahlreiche runde, von Sporen des Pilzes bedeckte Trockenflecken. Vielfach waren die Blätter durch den Befall vertrocknet. An den Rübsenblättern fiel eine lebhafte Verfärbung des die Flecken umgrenzenden Gewebes auf. Die grauen Trockenflecke waren von einem gelben, etwa 1 mm breiten Ring und einem weiteren violetten Hof umsäumt (Abb. 1). An Raps konnte um diese Zeit (18.—21. 10. 1937) Alternaria brassicae nicht beobachtet werden. Die erfahrungsgemäß größere Anfälligkeit des Rübsen für die Schwärze kommt dadurch schon zum Ausdruck. Versuche, Blätter von 5 Monate alten Rapspflanzen in Impfzellen mit Alternaria brassicae durch Übersprühen oder Aufpinseln einer Sporenaufschwemmung zu infizieren, hatten verhältnismäßig geringen Erfolg. Es entstanden nach 9—14 Tagen nur wenige größere runde Trockenflecke, die lange steril blieben, auf denen sich schließlich aber doch Sporen des Pilzes nachweisen ließen. Das zur Impfung benutzte Sporenmaterial wurde Kulturen entnommen. Der Pilz wächst und fruchtet gewöhnlich, wenn der Stamm nicht schon zu lange in Kultur ist, in ausreichendem Maße auf Nährböden verschiedener Art, so z. B. auf Hafermehlagar, Malzagar oder Gerstenähren. — Mehrfach wurde beobachtet, daß winzige Trockenflecke örtlich gehäuft auftraten, die sich meistens nicht weiter vergrößerten, so daß nur wenige Flecke beträchtlichere Ausdehnung gewannen.

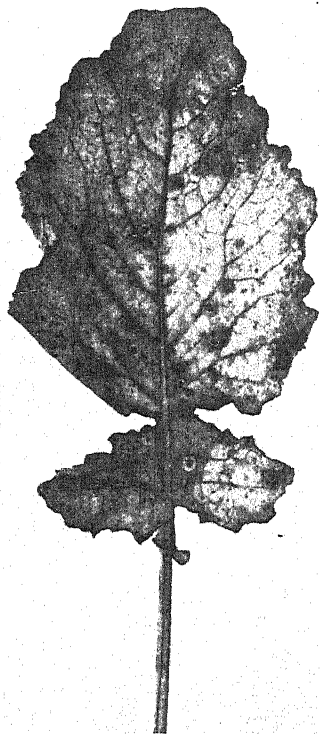



Abb. 1. Flecken von Alternaria brassicae auf Rübsenblättern.

Ein weiterer Versuch, 12 Tage alte Keimpflanzen von Raps und Rübsen in derselben Weise zu infizieren, hatte ein etwas überraschendes Ergebnis. Die Pflänzchen standen zur Erzielung großer Luftfeuchtigkeit unter Glasglocken, deren Wand mit feuchtem Filtrierpapier bedeckt war. Schon am 3. Tag nach der Sporenübersprühung erschienen auf den Keimblättern kleine schwarze, verschwommene Flecke. Bei den Rübsenpflanzen waren nicht nur die Keimblätter, sondern auch die Stengel angegriffen worden, an denen

schwarze, erweichte Streifen entstanden waren. Derartig befallene Pflanzen welkten beschleunigt oder fielen auch um, wenn die Infektionsstelle tief am Stengel saß. Überhaupt waren die Rübsenpflanzen die stärker geschädigten und gingen teilweise zugrunde, besonders nach Abnehmen der Glasglocke, da die befallenen Teile bald vertrockneten. (Zum Vergleich waren einige ebenso behandelte Töpfe unbedeckt gelassen worden. Es zeigte sich, daß die Feuchtigkeit des Raumes nicht ausreichte, um Infektionen an den Keimpflanzen zu ermöglichen.) Auf den Flecken selbst, die gleichartig in großer Zahl die Keimpflanzen bedeckten, erschienen keine Sporenlager, wohl aber 8 Tage nach Infektion an den welkenden, erweichten Rändern der Blätter und an den obengenannten Stengelstreifen. An fleckigen Keimblättern, die auf Filtrierpapier feucht gelegt waren, zeigten sich schon am nächsten Tage auch auf den Flecken, besonders aber neben diesen und an den Blatträndern junge Sporen. Der Versuch beweist, daß bei großer, längere Zeit andauernder Feuchtigkeit Alternaria brassicae auch den Keimpflanzen von Raps und Rübsen schädlich werden könnte. Derart günstige Infektionsbedingungen werden aber im Freien so selten sein, daß der Pilz als Keimlingsfeind ernstlich kaum in Betracht zu ziehen ist.

Zu demselben Schluß führte ein Versuch, bei dem geprüft werden sollte, ob bei Verwendung von Rapssamen, die aus schwärzekranken Schoten stammten und noch dazu mit Alternaria-Sporen eingepudert worden waren, das Wachstum der Keimlinge beeinflußt würde. Nach dem Ergebnis ist das zu verneinen. Die Keimung solcher in Töpfe gesäten Rapssamen und die weitere Entwicklung der Keimlinge wurde nicht durch Verpilzung gestört, und die heranwachsenden Pflanzen blieben gesund. Demnach ist Alternaria brassicae nicht mit Samen übertragbar, und die Verbreitung des Pilzes erfolgt nur von Sporenlagern alter Blatt- und Stengelreste. Schon im Frühherbst können Kohl, Rübsen, Stoppelrüben und ähnliche Kreuzblütler befallen werden, wodurch sich die Infektionsquellen erhalten und vermehren. Es werden stets genügend ältere Blätter mit Alternaria-Flecken überwintern, die bei Witterungsverhältnissen, die für eine lebhaftere Lebenstätigkeit des Pilzes günstig sind, im Frühsommer die Ursache für das Auftreten der Schwärze bilden (vgl. Flugbl. d. Biol. Reichsanst. 152/154).

2. Rhizoctonia solani Kühn als Rapsparasit.

Das auffällige Auftreten von Rhizoctonia solani an jungen Rapspflanzen veranlaßte mich, diesem allgemein verbreiteten und schon für viele Nutzpflanzen als schädlich erkannten Pilz besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Bei der Anlage von Topfkulturen zu Versuchszwecken wurde die Entwicklung der Rapskeimlinge durch Bodenpilze, in den weitaus zahlreichsten Fällen eben durch Rhizoctonia solani, stark beeinträchtigt, wenn unsterilisierte Erde Verwendung fand. Ein größerer oder geringerer Teil der aufgelaufenen Sämlinge ging durch Abtötung des Stengelgrundes ein. Die Neigung gerade von Brassica-Arten, z. B. Kohlpflanzen, im Saatbeet „umzufallen", ist lange bekannt und besteht demnach ebenso bei Raps und, wie die Versuche erwiesen, nicht minder bei Rübsen.

Im September 1937 fand Herr Dr. Wollenweber auf einem Feld bei Polkendorf, Kr. Neumarkt, Schlesien, an den Wurzeln zahlreicher Rapspflanzen denselben Pilz hauptsächlich in der Dauerform (Abb. 2). Der Be-

stand (auf leichtem Sandboden) war durch ungesundes Aussehen, insbesondere auffällige Anthozyanverfärbung der Blätter vieler Pflanzen aufgefallen. Welcher Art in diesen Fällen die Beeinträchtigung war, ließ sich trotz des starken Rhizoctoniabesatzes nicht ohne weiteres feststellen, da im Gegensatz zu den erwähnten Topfkulturen keine auffallende, durch den Pilz hervorgerufene Schädigung des Stengels oder des Wurzelsystems erkannt werden konnte. Öfters war zudem der Wurzelhals der Pflanzen von Fliegenmaden angefressen. Neben der Klärung dieser Frage war noch von Bedeutung, das Verhältnis des an den Feldpflanzen festgestellten Pilzes zu dem Keimlingsverderber, wie besonders auch zu der im Kartoffelbau sehr bekannten und zuweilen schädlichen Rhizoctonia kennenzulernen. Der auffällige Sklerotienbesatz der Polkendorfer Rapswurzeln schien jedenfalls ganz dem im Kartoffelbau allbekannten Knollengrind zu entsprechen.

Abb. 2. Wurzeln von Rapspflanzen mit Sklerotien von Rhizoctonia solani.

Über Befall von Raps durch Rhizoctonia solani hat schon 1931 van Poeteren berichtet. An die Niederländische Pflanzenschutzstelle in Wageningen eingesandte Rapsstengel und -wurzeln hatten außer Pykniden von Phoma oleracea starken Befall durch Rhizoctonia aufgewiesen. Nach den Angaben des Einsenders hatte der Raps sehr ungleich gestanden, stellenweise waren auch Pflanzen frühzeitig abgestorben. Van Poeteren ist der Ansicht, daß entweder einer der genannten Pilze oder beide zugleich den Schaden verursachten, und empfiehlt zur Bekämpfung der Rhizoctonia einen Fruchtwechsel, in dem Kartoffeln so wenig wie möglich zum Anbau kommen.

Nach den Untersuchungen einer Reihe von Forschern, von denen hier Thomas (1925) und vor allem Schultz (1936) genannt sein sollen, dessen Studien eine weitgehende Klärung der Rassenbildung von Rhizoctonia solani zu danken ist, gibt es eine Reihe hauptsächlich physiologisch verschiedener Varietäten dieses Pilzes. Schultz hat acht verschiedene Typen feststellen können, unter denen, was für die vorliegenden Untersuchungen von Bedeutung ist, einer hervortritt, der Cruciferen, vor allem Brassica-Arten, in besonders starkem Grade angreift.

Zur Prüfung, zu welcher Varietät der von mir aus der Topferde isolierte Stamm zu rechnen wäre, wie auch zur Klärung der Zugehörigkeit des von den Polkendorfer Pflanzen stammenden Pilzes wurden einige Rhizoctonia-Stämme zum Vergleich herangezogen, die mir zum Teil Herr Dr. Schultz freundlicherweise überlassen hatte. Einer dieser Stämme, von Kohlrabi isoliert, entsprach der var. brassicae Schultz, ein Stamm von Calanchoesämlingen rechnete zu var. hortensis Schultz, einer Varietät, die besonders in Gewächshäusern der Gärtnereien als „Vermehrungspilz" verbreitet ist. Zwei von Kartoffelknollen stammende Pilze waren zu var. typica Schultz zu stellen, deren einer der Sammlung des mykologischen Laboratoriums entnommen wurde, während der zweite frisch aus Sklerotien diesjähriger Knollen herangezogen worden war.

Im nachstehenden finden für die Stämme folgende Abkürzungen Verwendung:
U: Isoliert aus umgefallenen Rapssämlingen, Dahlem.
W: „ von Rapswurzeln, Polkendorf.
K: „ von Kartoffel, Mykol. Labor.
H: var. brassicae.
B: „ hortensis.
KB: Isoliert von Kartoffel, Brieselang.

Die Vergleiche wurden auf 2 Wegen durchgeführt: Einmal läßt sich die Verwandtschaft oder Zugehörigkeit einzelner Stämme bis zu einem gewissen Grade an der Angriffsstärke gegenüber bestimmten Pflanzen erkennen, andererseits kann nach Schultz die Neigung der Myzelien, gegenseitig Anastomosen einzugehen, zur Unterscheidung der Stämme ausgewertet werden.

Infektionsversuche.

Vorausgeschickt seien einige Angaben über die Verluste an Rapssämlingen, die der Stamm U in Versuchstöpfen verursachte. Von sehr wenigen Fällen abgesehen, in denen Pythium und andere Bodenpilze, u. a. auch Fusarien, an absterbenden Keimlingen festgestellt wurden, war in auffälligster Weise Rhizoctonia als Keimlingsfeind in Erscheinung getreten. Der Ausfall war in den betroffenen Töpfen, insgesamt 34, mit je 10—20 Sämlingen, verschieden. 3 Wochen nach Aussaat waren in einer Reihe von Töpfen alle Pflänzchen durch den Pilz vernichtet; in den meisten waren jedoch nur vereinzelte Ausfälle durch Umfallen zu bemerken. Die Verschiedenheiten im Verseuchungsgrad der Töpfe sind erklärlich, da nicht anzunehmen ist, daß das Myzel in der verwendeten Erde gleichmäßig verteilt war.

Ältere Pflanzen vermögen sich nach dem Befall noch lange am Leben zu erhalten oder sich sogar ganz zu erholen, da die Leitungsbahnen nicht völlig zerstört werden. Das Rindengewebe des Stengelgrunds verfällt auch bei ihnen rasch und vollständig. Eine starke mehr oder weniger lange Verengung des Stengelgrundes und dessen verkrustete Rinde zeugt von überwundenem Befall. Immerhin kamen noch 2 Monate nach der Aussaat in verseuchtem Boden Rapspflanzen durch Rhizoctonia zum Erliegen.

Der so außerordentlich angriffskräftige Stamm (U) wurde für Infektionsversuche in Kultur genommen. Diese wurden im Zusammenhang mit der Prüfung und Vergleichung aller verfügbaren Stämme ausgeführt. Dabei folgte ich in der Hauptsache den Angaben von Schultz: Etwa 1—2 qcm große Stückchen von Agarkulturen der Stämme wurden auf die Oberfläche der sterilisierten Erde der Versuchstöpfe gelegt und leicht mit Erde bedeckt. Die Bodenimpfung wurde 1—3 Wochen nach der Aussaat vorgenommen, wobei zu bemerken ist, daß die spätere Impfzeit auf das Ergebnis keinen Einfluß hatte.

Die Versuche wurden in mehrfacher Wiederholung mit Raps und Rübsen bei einer Temperatur von 16—25° in einer Infektionskammer durchgeführt, in der leicht hohe Luftfeuchtigkeit zu erhalten war. In wenigen Tagen zeigte sich bei den angriffskräftigen Stämmen der Erfolg. Näheres geht aus der nachstehenden Tabelle 1 hervor.

Nach 7—12 Tagen waren also sämtliche bzw. fast sämtliche Pflanzen von Raps wie von Rübsen nicht nur dem frisch isolierten Stamm U erlegen, sondern ebenso auch dem übernommenen Stamm B. Mit H war der Erfolg in mehreren Versuchsreihen äußerst geringfügig, bisweilen wurden aber vom Luftmyzel des Pilzes nach längerem Zuwarten zwar nicht der Stengelgrund, aber der obere Stengelteil und Blätter einiger Pflanzen angegriffen und zerstört. Der Rapswurzelpilz (W) und der Kartoffelpilz (K, wie übrigens auch KB) vermochten den Pflanzen nichts anzuhaben. Schlechteres Wachstum

Tabelle 1.

Rhizoctonia-stämme	Versuchspflanzen Aussaat 26. 1. Bodenimpfung 4. 2.		Gesamtausfall durch Rhizoctonia bis								
	Raps	Rübsen	7. 2.	8. 2.	9. 2.	10. 2.	11. 2.	12. 2.	13. 2.	15. 2.	16. 2.
U	37		0	4	12	12	12	22	30	31	**37**
		51	13	15	18	26	33	43	48	**51**	
H	35							1	1	1	1
		41									0

	Bodenimpf. 14. 2.		Ausfall bis				
	Raps	Rübsen	18. 2.	19. 2.	21. 2.	22. 2.	25. 2.
B	21		12	17	20	**21**	
		20	19	19	**20**		
H	20						1
		20					1
	Aussaat 5. 3. Bodenimpf. 18. 3.		**Ausfall bis**				
	Raps	Rübsen	21. 3.	26. 3.	28. 3.	30. 3.	11. 4.
U	70		10	55	62	65	**69**
		48	2	40	45	**48**	
B	50		19	46	46	47	**47**
		40	33	39	**40**		
W	60						0
		30					0
K	60						0
		30					0

kann für das neutrale Verhalten dieser Stämme nicht verantwortlich gemacht werden. Denn bei allen breitete sich in der feuchten Luft das Myzel sichtbar über die Erdoberfläche aus, hatte also beste Gelegenheit, die Pflanzenstengel anzugreifen.

Von den übernommenen Vergleichsstämmen gefährdet demnach allein B Raps- und Rübsensämlinge, und das gleichartige Verhalten von U und B macht eine nähere Verwandtschaft beider Stämme wahrscheinlich. Der zartere Bau der Rübsensämlinge läßt diese schneller als Raps den angriffskräftigen Stämmen erliegen.

Erfolgt die Aussaat in Erde, die schon mit bestimmten Rhizoctonia-Stämmen versetzt ist, also unter Bedingungen, die den natürlichen am ehesten entsprechen, so äußert sich das unterschiedliche Verhalten der Myzelien in nicht minder ausgeprägter Weise: Wie in den bisher beschriebenen Ver-

suchen wurden Stückchen von Agarkulturen nahe der Oberfläche unter die sterilisierte und gut durchfeuchtete Erde der Versuchstöpfe gemischt. Nach 2 Tagen wurden mit Germisan gebeizte und 1—2 Tage angekeimte Raps- und Rübsensamen in den infizierten Boden eingebracht. Der Erfolg entsprach ganz den bisherigen Ergebnissen. Angriffskräftige Stämme töten zum größten Teil die Keimlinge schon ab, bevor sie die Erdoberfläche erreichen, oder wenig später. Was von den Keimlingen dennoch über den Boden kommt, wird im Verlauf weniger Tage meist restlos, zuweilen mit Ausnahme einzelner besonders lebenskräftiger Pflanzen vernichtet. Die befallsträgen Kartoffelstämme dagegen hindern die Entwicklung der Sämlinge in keiner Weise (Abb. 3).

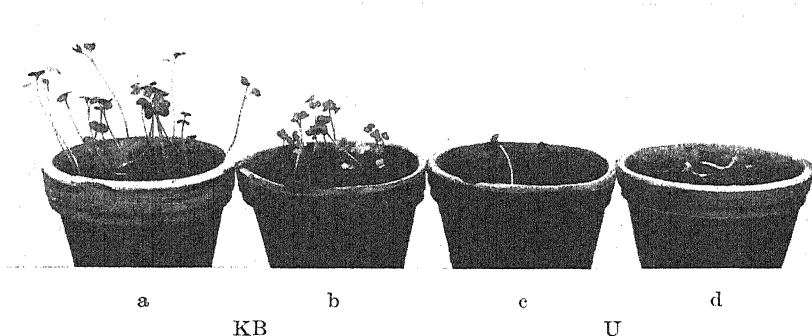



Abb. 3. Erdinfektion mit den Rhizoctonia-Stämmen KB und U. Raps (a, c) und Rübsen (b, d), 7 Tage nach Aussaat.

Prüfung der Anastomosenbildung.

Wie eingangs erwähnt, wurde zur Ergänzung der erhaltenen Ergebnisse wie besonders auch zur Festlegung der Zugehörigkeit von Stamm W ein Weg beschritten, auf den die Ergebnisse der Arbeit von Schultz (1936) hinwiesen. Schultz hat in den schon bekannten Verschiedenheiten der Anastomosenbildung zwischen Rhizoctonia-Stämmen (Matsumoto, 1921) ein brauchbares Unterscheidungsmerkmal der Varietäten gefunden.

Das auf diese Erkenntnis gegründete Verfahren schien einfach und überzeugend. Die Versuchsanordnung war im wesentlichen die von Schultz angewendete.

Ein Objektträger, dessen Enden vor der Sterilisierung (Erhitzen in der Gasflamme) mit den Zeichen der gewählten Stämme versehen war, wurde in einer sterilisierten Petrischale durch Aufgießen mit einer dünnen Agarschicht bedeckt (Verwendung fand vor allem Kartoffelsaftagar) und im Abstand von etwa 3—4 cm mit Myzel der zu vergleichenden Stämme belegt. Nach 2—3 Tagen sind die Myzelien sich soweit entgegengewachsen, daß Berührungen und Überschneidungen auftreten. Unter dem Mikroskop läßt sich der aus der Schale genommene Objektträger auf das Vorkommen von gegenseitigen Myzelverschmelzungen prüfen. Wie auch Schultz bemerkt, ist die Zeitspanne, in der eine Untersuchung möglich ist, beschränkt, da die Myzelien schnell derart ineinanderwachsen, daß das Suchen nach gegenseitigen Anastomosen fast aussichtslos wird.

Die aus den Vereinigungsversuchen mit den verfügbaren Stämmen erhaltenen Ergebnisse, die in mehreren Versuchsreihen und zu verschiedener Jahreszeit vorgenommen wurden, sind in nachstehender Tab. 2. zusammengestellt.

Tabelle 2.

Kombination	Hyphen-vereinigungen	
B + U	+	Die wichtigsten Zusammenstellungen wurden in 7 Versuchsserien ausgeführt und hatten stets dasselbe Ergebnis
B + W	—	
W + K	+	
W + H	—	
U + W	—	
U + K	—	
U + H	—	

Vollkommene Anastomosen mit glatter Auflösung der sich berührenden Wände wurden auch in den Myzelbrücken enthaltenden Zusammenstellungen selten beobachtet. Dagegen waren bestimmte eigentümliche Nebenerscheinungen mit der Bildung der Myzelbrücken verbunden. So zeigten sich bei der Vereinigung B + U zwar verhältnismäßig zahlreiche Zusammenschlüsse, doch fiel meist auf, daß das Plasma einer oder beider Hyphen körnig und blasig geworden war, in der Regel auch seinen normalen Turgor verloren hatte, Erscheinungen, die bei Anastomosen innerhalb der stammeigenen Myzelien nicht zu beobachten sind (Abb. 4 a—c). Trotz der gegenseitigen Anziehung der Myzelien, die zur Vereinigung der Hyphen führte, schien demnach ihr Plasma sich irgendwie ungünstig zu beeinflussen. Immerhin zeigt die Vereinigung an sich ausreichend, daß Stamm U zu B in genügend nahem Verhältnis steht, um ihn zur gleichen Typengruppe, eben zu var. brassicae, ziehen zu können.

Abb. 4.
a—c Hyphenvereinigungen zwischen Stamm B und U.
d Normale Anastomosen innerhalb eines Stammes.

Stamm W bildete allein mit K Myzelvereinigungen, die aber ebenfalls, wie sich in allen Versuchswiederholungen zeigte, in der zur Beobachtung geeigneten Zeit meist zu keinen vollkommenen Verschmelzungen führten.

Plasmaveränderungen waren dabei nicht zu bemerken wie im oben beschriebenen Falle, doch fand sich dafür eine andere Eigentümlichkeit. Von dem einen Partner wurde nämlich ein schmaler Fortsatz in die Zelle der Gegenseite hineingetrieben, dessen Spitze den Beobachtungen nach verhältnismäßig spät, nach Stunden erst, zur Auflösung kam. Der in das Gegenmyzel eindringende Pilz war stets Stamm W (Abb. 5). Da alle anderen Zusammenstellungen keine gegenseitigen Bindungen ergaben, ist auch in diesem Fall die nahe Verwandtschaft der Myzelbrücken bildenden Stämme W und K augenscheinlich.

Die Einführung des Rhizoctonia-Stammes KB in diese Untersuchungen, der im September 1938 von grindigen Kartoffelknollen (Herkunft Brieselang b. Nauen) isoliert worden war, brachte eine weitere Bestätigung der bis dahin mit Stamm W und K erhaltenen Ergebnisse. Es

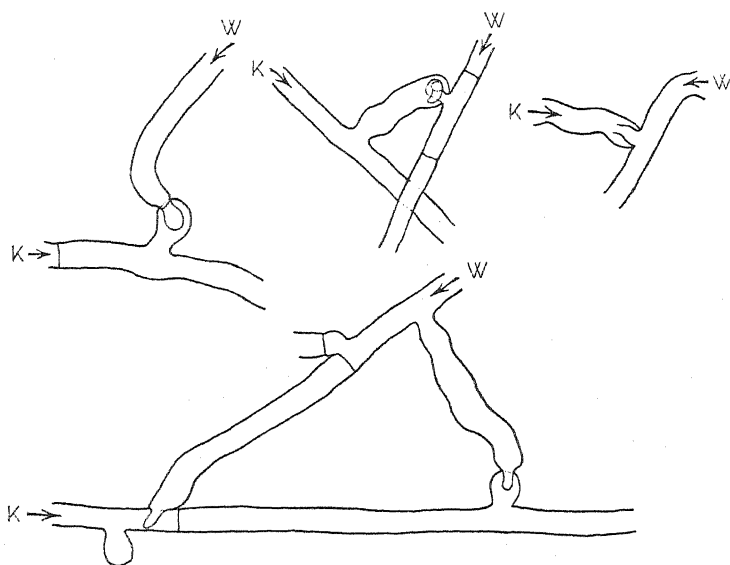



Abb. 5. Hyphenvereinigungen zwischen den Stämmen W und K.

ist bemerkenswert, daß sich bei Kombinationsversuchen mit diesem Stamm dieselben Eigentümlichkeiten bei der Anastomosenbildung zeigten, die oben beschrieben wurden. Es stellte sich heraus, daß KB ebenso wie W bei Begegnung mit K, dem alten, aus dem mykologischen Laboratorium stammenden Pilz, in die Partnerhyphe einen Fortsatz treibt, der später aufgelöst wird. Stets erweist sich auch hier Stamm K als der passive Teil. Bei der Zusammenstellung KB + W war zu beobachten, daß ähnlich wie im Falle B + U (s. o.) glatte Anastomosen selten, dagegen nach dem Zusammenschluß Plasmaveränderungen, Blasig- und Körnigwerden, oder Erschlaffen der betreffenden Zellen das gewöhnliche waren. Diese Ergebnisse lassen wiederum auf erbliche Verschiedenheiten geringeren Grades innerhalb einer zusammengehörenden Gruppe von Rhizoctonia-Stämmen schließen. Mit allen übrigen Stämmen ging KB ebenso wie W und K keine Anastomosen ein.

Schultz hat übrigens bei seinen über 1000 Kombinationen keine derartige Besonderheit wie das Eindringen eines Fortsatzes in die Partnerzelle beobachten können.

Im Verlauf der Infektionsversuche hatten sich sowohl W wie K und KB stets neutral verhalten. Wird wieder beides, Fähigkeit zur Anastomosenbildung und Infektionsergebnis, berücksichtigt, so läßt sich mit großer Sicherheit der aus den Rapswurzelsklerotien gezogene Pilz W mit den Kartoffelherkünften in eine Varietätengruppe, nämlich var. typica Schultz, stellen. Auf jeden Fall steht zweifelsfrei fest, daß Stamm U und B, die sich als große Keimlingsfeinde erwiesen, nicht zu W in näherem Verwandtschaftsverhältnis stehen; hatte sich doch auch im Infektionsversuch gezeigt, daß der letztgenannte Stamm junge Rapspflanzen nicht angriff. Wenn aber trotzdem der Pilz an Wurzeln von mehrere Monate alten Pflanzen in auffälliger Weise aufgetreten war, so ist wahrscheinlich, daß der Pilz die Wurzeln nur äußerlich als Platz für die Sklerotienbildung benutzte, an Stelle der sonst von ihm bevorzugten Kartoffelknollen. Wenn das Feld, auf dem sich die sklerotienbesetzten Wurzeln fanden, auf größere Strecken Kümmererscheinungen an den jungen Pflanzen erkennen ließ, so kann einesteils als wahrscheinlich gelten, daß die Wurzeltätigkeit, besonders die Ausbildung der Saugwurzelfasern der betroffenen Pflanzen durch den auffällig dicken Besatz der Myzelborke von Rhizoctonia solani rein mechanisch behindert, das Wurzelgewebe selbst aber nicht angegriffen wurde. Andererseits werden wohl schlechte Bodenverhältnisse noch mehr dafür verantwortlich zu machen sein. Diese Annahme rechtfertigt sich in gewisser Hinsicht durch die weitere Entwicklung des betreffenden Rapsschlags, der sich im folgenden Frühjahr bei einer Besichtigung durch Herrn Dr. Buhl, Pflanzenschutzamt Breslau, weitgehend erholt zeigte und einen guten Ertrag versprach, nachdem der Raps im Herbst eine Kopfdüngung mit Kalksalpeter erhalten hatte.

Wenn auch der Stamm W die Entwicklung junger Pflanzen in keiner Weise störte, so war doch die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß der Pilz, wie im freien Feld, so auch im Topfversuch die Wurzeln zur Sklerotienbildung besiedelte. Auf das Vorkommen eines Wurzelbesatzes wurden zahlreiche, 53 Tage alte Raps- und Rübsenpflanzen untersucht, deren Töpfe 40 Tage zuvor mit den Stämmen, W, H und K belegt worden waren. Nur an einer einzigen Rübsenpflanze eines mit W beimpften Topfes fanden sich auf der Hauptwurzel zwei kleine Sklerotien, während alle übrigen Raps- wie Rübsenpflanzen nichts erkennen ließen. Es ist zu betonen, daß sich die Sklerotien gerade an der Wurzel der kräftigsten, im übrigen gesunden Rübsenpflanze ausgebildet hatten. Die Töpfe waren mit zu zahlreichen Pflanzen besetzt, so daß die meisten aus Platzmangel in der Entwicklung zurückgeblieben waren.

Zur Vervollständigung der erhaltenen Ergebnisse sollten noch einige Versuche mit Kartoffelpflanzen beitragen. Dazu fanden aus Rhizoctoniafreien Knollen in Töpfen aufgezogene Pflanzen Verwendung. Die sterilisierte Erde der Töpfe wurde mit Myzelstückchen einiger Stämme oberflächlich vermischt. Da hauptsächlich geprüft werden sollte, wie sich Stamm W gegen Kartoffelpflanzen verhielt, da er doch den Anastomosenversuchen nach den Kartoffelstämmen nächstverwandt war, wurden nur die Stämme W, B und H erprobt.

Verhalten von W:

Die unterirdischen Triebe der Kartoffelpflanzen trugen am 25. 5. 1938, 19 Tage nach der Infektion, gebräunte Wundstellen von 2—4 cm Länge mit abgestorbenem Rindengewebe. Diese Stellen enthielten sowohl älteres

braunes als auch junges noch farbloses Rhizoctoniamyzel. Am 11. 7. wurde die Pflanze ganz aus dem Topf genommen. Auf der Rinde von zwei neu gebildeten Knollen hatten sich inzwischen an mehreren Stellen Sklerotienkrusten gebildet. Um volle Sicherheit zu haben, daß der vorgefundene Pilz nicht etwa trotz aller Sorgfalt mit der Saatknolle in den Boden gekommen war, wurde die Anastomosenbildung zwischen dem von den jungen Knollen isolierten Myzel und dem ursprünglichen Stamm W untersucht. Es zeigte sich, daß zwischen den Myzelien zahllose offene Anastomosen entstanden, wie sie in stammeigenem Myzel aufzutreten pflegen. Das beweist die Zugehörigkeit des rückisolierten Myzels zu Stamm W zur Genüge. Durch den Befall der Kartoffeltriebe und der Knollen findet die Annahme nochmals eine Stütze, daß W zur typica-Gruppe gehört.

Verhalten von Stamm B:

Das Myzel wurde zwar wie im vorigen Fall an den Bodentrieben der Kartoffelpflanze wiedergefunden, trat jedoch nur als weitmaschiges Netz brauner Fäden in Erscheinung, ohne sichtbare Verletzungen oder eine auffälligere Verfärbung der Rinde hervorgerufen zu haben.

Verhalten von Stamm H:

Dieser Stamm war auf die Pflanze nicht übergegangen. Sein Myzel war an keinem Pflanzenteil nachzuweisen.

Aus der Gesamtheit der Ergebnisse bezüglich Rhizoctonia geht hervor, daß die Schädlichkeit des Polkendorfer Rhizoctonia-Auftretens kaum auf einem echten Angriff auf das Gewebe der Pflanzen beruhte, sondern allenfalls in einer mechanischen Behinderung der Wurzeltätigkeit bestand. Denn der Polkendorfer Pilzstamm zeigte sich im Gegensatz zu anderen gegenüber jungen Rapspflanzen völlig gleichgültig. Dagegen steht fest, daß Raps und Rübsen vor allem als Keimpflanzen durch eine andere Rasse von Rhizoctonia solani, nämlich var. brassicae Schultz, angegriffen und abgetötet werden können. Über Feldschäden ähnlicher Art ist aber bisher noch nichts bekannt geworden. Bei dem eingangs erwähnten holländischen Rhizoctonia-Vorkommen handelte es sich allem Anschein nach um ältere Pflanzen, wobei zudem noch die Rolle des Pilzes keine genügende Klärung gefunden hatte.

Was die Bekämpfungsfrage angeht, so ist zu empfehlen, zur Ausschaltung von Rhizoctonia-Schäden, möge ihre praktische Bedeutung auch vielleicht einstweilen noch nicht genügend klargelegt sein, doch einen Fruchtwechsel Kartoffel-Ölfrucht zu vermeiden.

Daß diese Forderung schon von van Poeteren (1931) aus demselben Grunde gestellt wurde, ist eingangs dieses Abschnitts erwähnt worden.

3. Versuche mit Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) Sacc. et Trott.

Der Rapskrebs, die durch Sclerotinia sclerotiorum verursachte Krankheit, die besonders in der Blütezeit hervortritt, hat zwar im allgemeinen nur geringe wirtschaftliche Bedeutung (vgl. Flugbl. d. Biolog. Reichsanst. 152/154, 1938), doch macht sich zuweilen bei ungünstiger Lage und Witterung der Befall recht auffällig bemerkbar. Wenn auch die Erregerfrage als hinreichend geklärt gelten kann, soll über einige Infektionsversuche berichtet werden. Versuche an Keimpflanzen wurden schon 1896 von Frank

angestellt. Es fehlen aber Angaben über Impfung erwachsener, in Blüte stehender Pflanzen, auf denen im Freien gewöhnlich der Rapskrebs angetroffen wird. Durch Verwendung eines von Hanf isolierten Sclerotinia-Stammes (Hanfkrebs), bot sich zugleich Gelegenheit, eine etwa bestehende Spezialisierung des Pilzes hinsichtlich seiner Wirtswahl zu erkennen. Die Infektionsversuche sollten womöglich mit Askosporen ausgeführt werden. Um solche im Frühjahr zur Verfügung zu haben, waren im Herbst 1937 aus Stengeln erkrankter Hanfpflanzen (Herkunft Berger Damm bei Nauen) Sklerotien entnommen und in einem kleinen Glaskolben auf feuchter Gartenerde ausgelegt worden, der mit Watte verschlossen eine Zeitlang im Laboratorium aufbewahrt, über die Wintermonate aber im Freien flach in den Boden eingegraben wurde. Am 4. 3. stellte ich das Kölbchen, in dem die Sklerotien inzwischen gekeimt hatten, wieder ins Arbeitszimmer, wo sich in 1½ Monaten die Apothezien voll entwickelten (Abb. 6). Am 30. 4. wurden mit den zu dieser Zeit reichlich zur Verfügung stehenden Askosporen zwei eingetopfte, im Freien überwinterte und vor der Blüte stehende Rapspflanzen mit einem Zerstäuber übersprüht und im Infektionskasten aufgestellt. Eine Pflanze war zuvor durch Abschneiden von Trieben und weitere Stengeleinschnitte verletzt worden. Am 5. 5. zeigten sich an der unverletzten Pflanze in mehreren Blattachseln des oberen Stengelteils dunkelbraune Flecke, die sich in 2 Tagen sehr stark vergrößerten. Blattgrund und Stengel wurden fast völlig von den inzwischen erweichten Flecken umfaßt; außerdem war ein Zweig in gleicher Weise angegriffen worden und umgeknickt. Aus den Flecken war üppiges Luftmyzel herausgetreten (Abb. 7). Die verletzte Pflanze war anscheinend widerstandsfähiger. Als die andere schon starke Befallsmerkmale aufwies, war an ihr trotz der Stengelwunden keine Infektionsstelle zu erkennen. Die Verletzungen erleichterten die Infektion nicht, trotzdem sie durch austretendes Wasser dauernd feucht blieben. Am 10. 5. war die angegriffene Pflanze an einer Befallsstelle völlig vom Myzel durchwachsen und umgeknickt, und in dem dick wolligen Luftmyzel zeigten sich Anfänge der Sklerotienbildung. Auf einem Blatte hatte sich zudem ein großer, schnell an Ausdehnung zunehmender brauner Faulfleck gebildet, der ebenfalls von

Abb. 6. Apothecien von Sclerotinia sclerotiorum.

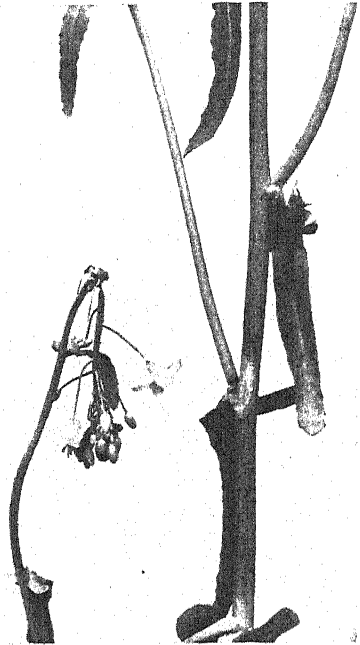



Abb. 7. Künstliche Infektion mit Sclerotinia-Askosporen. Rapsstengel mit Infektionsstellen.

Sklerotiniamyzel bedeckt war. Die trotz Verletzungen nicht angegriffene zweite Pflanze wurde am 10. 5. aus der Infektionskammer in einem größeren Raum untergebracht, aber am 21. 5. wieder in die Schwitzkammer versetzt. Von der Wunde eines durchschnittenen Zweigs ausgehend, bildete sich nunmehr eine allmählich breiter werdende Faulstelle aus, auf der seit 30. 5. das typische wollige Myzel hervortrat. Die Infektionsbedingungen waren demnach bei dieser Pflanze mit dem Älterwerden günstiger geworden.

Im Februar war versucht worden, den Pilz dadurch auf etwa 5 Monate alte eingetopfte Rapspflanzen zu übertragen, daß mit Sclerotiniamyzel durchsetzte Agarstückchen unter die Erde der Töpfe gemischt wurden. Aber weder an unverletzten noch an verletzten Stengeln und Wurzeln konnte ein Angriff des Pilzes festgestellt werden.

Versuche von Rudorf (1937) mit Sclerotinia trifoliorum Eriks. haben erwiesen, daß zerkleinertes Myzel, sogar das Mehl fein zermahlener Sklerotien dieses Pilzes voll infektionstüchtig ist. Ein entsprechendes Verfahren wurde von mir mit Sclerotinia sclerotiorum an Rapspflanzen erprobt. Im Freien dürfte allerdings eine Infektion ähnlicher Art kaum zustande kommen.

Auf Kartoffelsaftagar gezüchtetes Myzel einer Askosporenkultur der Hanf-Sclerotinia wurde unter Wasser in möglichst kleine Stückchen zerschnitten und zerrupft. Die so erhaltene Myzelaufschwemmung konnte leicht mit einem Zerstäuber über einige blühende, eingetopfte Rapspflanzen gesprüht werden. Überraschenderweise erwies sich dieses einfache Verfahren als völlig ausreichend, mehrfache Infektionen hervorzurufen. Derartig am 16. 5. behandelte Pflanzen zeigten am 23. 5. deutliche Befallszeichen. Auch hier trat die besondere Empfindlichkeit des stengelumfassenden Blattgrundes in Erscheinung, der das längere Stehenbleiben von Wassertropfen und damit das Auswachsen der Hyphen begünstigt. Jedenfalls waren wieder mehrere Infektionen gerade in den Blattachseln zu beobachten. Daneben traten bezeichnende Befallsflecken auf Blättern und an Stengelabschnittstellen wie bei den Askosporenversuchen auf. Am 26. 5. zeigte sich zudem eine Infektion des Stengelgrundes, die im Freien besonders häufig zu beobachten ist, auch an einer der mit Myzelstückchen übersprühten Pflanzen. Einige Zentimeter über dem Boden erschien ein dunkler, erweichter Fleck, aus dem üppiges Sclerotinia-Myzel heraustrat und schließlich den ganzen Stengelgrund bis zum Boden bedeckte. Bis Mitte Juni hatten sich an allen befallenen Pflanzen außen an den Stengeln und Trieben und zum Teil in ihrem Innern zahlreiche Sklerotien gebildet (Abb. 8). Völlig abgestorben war übrigens nur die am Grunde befallene Pflanze.

Abb. 8.
Sclerotinia-Sklerotien im Mark eines Rapsstengels.

Aus den Versuchen, sowohl den mit Askosporen wie mit Myzel angestellten, ergibt sich, daß an blühreifem Raps besondere Empfindlichkeit gegen Sclerotinia sclerotiorum die Blattachseln zeigen. Die den Hanfkrebs verursachende Sklerotinia vermag ohne ersichtliche Hemmung auch Rapspflanzen zu befallen.

Eine Spezialisierung in der Wirtswahl ist demnach für den Erreger des Hanf- und Rapskrebses nicht festzustellen.

4. Versuche mit Botrytis cinerea Pers.

In ähnlicher Verbreitung wie Sclerotinia ist zuweilen der Grauschimmel zu beobachten. Häufig sieht man in demselben Rapsfeld zur Blütezeit Pflanzen, die dem Botrytis-Pilz erlegen sind, neben solchen, die durch Sclerotinia abgetötet wurden. Das Erscheinungsbild ist oft in beiden Fällen sehr ähnlich. Erkrankte Pflanzen fallen schon von weitem durch ihr vergilbtes, welkes Aussehen auf. Vornehmlich ihr Stengelgrund erweist sich äußerlich als mehr oder weniger vermorscht und entweder von einem hellen Belag von Sclerotinia-Myzel oder von dickem Botrytis-Schimmel bedeckt (Abb. 9).

Abb. 9. Durch Botrytis abgetötete Rapspflanzen. Am Stengelgrund Schimmelpolster.

Auch Botrytis-Schäden erlangen örtlich beschränkte wirtschaftliche Bedeutung bei besonders ungünstigen Verhältnissen, während in der Regel nur vereinzelte Pflanzen Befall zeigen. Immerhin kamen beträchtlichere Grauschimmelvorkommen schon wiederholt zu Meldung.

So wurden in den Berichten über Schädigungen und Krankheiten der Kulturpflanzen der Biologischen Reichsanstalt für Mai 1935 und April 1937 und 1938 starke Schäden in Sachsen angegeben (Meldungen aus Bez. Kamenz, Bautzen, Dresden). Aus Schleswig-Holstein (Steinberg, Krempermarsch) wurde starker Botrytisbefall im Mai 1936 gemeldet, für den zu frühe Saat und zu starke Stickstoffdüngung verantwortlich gemacht wurde. Im eigenen Versuchsfeld trat die Botrytisfäule auch schon vereinzelt im März vor dem Schossen auf und vernichtete die Herztriebe der befallenen Rosetten. Bei einer Besichtigung von Rapsfeldern in Holstein Ende März 1938 konnten aber nur ganz vereinzelt Botrytisschäden ähnlicher Art beobachtet werden, für deren Auftreten anscheinend gewisse Vorbedingungen, etwa schwächliche Veranlagung oder eine Schädigung durch Frost, bestehen müssen.

Versuche, durch Übersprühen mit Botrytis-Sporen Rapssämlinge zu infizieren, hatten keinen Erfolg, obwohl Kulturen verwendet wurden, die aus Sporen von stark befallenen Rapspflanzen gezüchtet waren. An älteren blühenden Pflanzen allerdings wurden in der sehr feucht gehaltenen Infektionskammer nach einiger Zeit — 1 bis 2 Wochen — junge Blätter und Triebe befallen und zerstört. Ein Krankheitsbild, wie es im Freiland gewöhnlich angetroffen und oben beschrieben wird, konnte aber nicht erzielt werden. Blatt- oder Stengelverletzungen erleichterten wie bei den Sclerotinia-Versuchen die Infektion in keiner Weise, selbst wenn die Wunden mit einer

Sporenaufschwemmung bestrichen wurden. Was in Wahrheit die Bedingungen für einen Botrytis-Angriff sind, wie er im Freien so häufig zu beobachten ist, ließ sich demnach durch die angestellten Versuche nicht aufklären.

5. Echter Mehltau (Erysiphe communis Lk.).

Meldungen über Befall von Raps durch Mehltau sind nur vereinzelt eingelaufen, so z. B. über ein Auftreten in Querfurt (Sachsen) im Mai 1936, und in Koblenz 1938. Erwähnt sei, daß noch im Spätherbst (November 1937) im eigenen Versuchsfeld an einigen Pflanzen Mehltau gefunden wurde, der sich allerdings nicht weiter ausbreitete. An einigen Topfpflanzen, die im Gewächshaus überwintert hatten, zeigte sich der Pilz plötzlich in den ersten Februartagen und breitete sich schnell auf alle vorhandenen Rapspflanzen aus, die schon zu Ende des Monats völlig von Mehltau überzogen waren, ohne übrigens in auffälliger Weise darunter zu leiden. Da der Befall unter abnormen Bedingungen stattgefunden hatte, im Freien aber kaum einmal nennenswerte Schäden angerichtet werden, kann dem Erysiphe-Mehltau für die Praxis keine Bedeutung beigemessen werden.

6. Falscher Mehltau (Peronospora brassicae Gäum.).

Schon im Herbst 1937 (am 19. Okt.) zeigten sich im Versuchsfeld auf den Blättern junger, am 12. Aug. zur Aussaat gekommener Rapspflanzen Peronospora-Flecke, die vereinzelt auch Mißbildungen und Verkrümmungen an Stengeln und Blättern hervorgerufen hatten. Der Pilz erfaßte bis November noch zahlreiche ältere bodennahe Blätter, die durch den Befall gelbfleckig wurden und vorzeitig zugrunde gingen. Immerhin konnte von einer beträchtlichen Schädigung nicht gesprochen werden. Trotz dieser Herbstinfektion wurden nach dem Schossen der Pflanzen im April 1938 keine Peronospora-Rasen an den neuentwickelten Blättern gefunden, obwohl noch zu Anfang des Monats an alten Blättern der Winterrosetten Pilzflecke festzustellen waren. Diese Rosettenblätter waren im Frühjahr allerdings bald zugrunde gegangen, ohne zu Neuinfektionen im Freien beigetragen zu haben. Dennoch werden wohl die alten im Frühjahr mit Konidienrasen besetzten Rosettenblätter dort der Anlaß zu Frühjahrsinfektionen gewesen sein, wo solche beobachtet wurden. So zeigte sich ein Rapsschlag bei Berlin-Mahlsdorf im Mai 1938 randlich stark von Peronospora befallen. Jedenfalls waren bei diesen in Blüte stehenden Pflanzen alle älteren Blätter durch den Befall verdorrt oder schon abgefallen, während jüngere große Vergilbungs- und Dürrezonen aufwiesen, deren Ursache sich in den unterseitigen Pilzrasen zu erkennen gab. Der Schaden könnte sich in einem solchen Fall in geringerem Fruchtansatz äußern, da die Assimilationsfläche gegenüber gesunden Pflanzen vorzeitig stark vermindert ist. Eigenartigerweise waren nur Pflanzen am Südrand des Feldes längs einer Bahnlinie stärker befallen, während sonst in diesem Feld Peronospora-Flecken sehr zurücktraten. Ähnlichen randlichen Befall konnte ich in einem Rapsschlag bei Hof Kreßbach, Kr. Tübingen, beobachten. Der Schaden durch Peronospora-Befall wird im freien Feld für gewöhnlich zu geringfügig sein, als daß gegen Peronosporaceen übliche Bekämpfungsmaßnahmen jemals in Frage kämen.

An Rapspflanzen, die im April in eine Impfzelle gestellt worden waren, nachdem sie eingetopft im Freien überwintert hatten, erschienen sehr bald Peronospora-Flecken auch an jungen Blättern. Konidienlager an alten über-

winterten Blättern oder Blattresten bildeten die Infektionsquelle. Für die Durchführung von Versuchen mit anderen Pilzen war der Peronospora-Befall recht lästig und nur durch Unterbrechung der Versuche wieder los zu werden. Der Pilz richtete Sämlingskulturen von Raps und Rübsen völlig zugrunde. Besonders die Keimblätter wurden sehr stark und schnell befallen, vergilbten und schrumpften schließlich zusammen. Dasselbe Schicksal erlitten zartere Blätter überhaupt, während ältere nur mehr oder weniger fleckig wurden, ohne besonders zeitig abzusterben.

7. Typhula sp. in Rapsfeldern.

Untersucht man im zeitigen Frühjahr in Rapsfeldern den Boden genauer, so begegnet man gewöhnlich an stark verrotteten Blattresten kugligen oder nierenförmigen, meist 1—2 mm breiten Sklerotien einer Typhula-Art. Es scheint, daß dieser Pilz an der Aufarbeitung der modernden Pflanzenteile maßgeblich beteiligt ist. Im eigenen Versuchsfeld wurden Anfang März einige kleine Rapspflanzen gefunden, die im Rosettenzustand gleichzeitig mit den obengenannten Fällen von Botrytis - Herzfäule eingegangen waren, aber keinerlei Botrytis-Schimmel aufwiesen, sondern deren erweichte Stengel und Herztriebe von zahlreichen mohnkorngroßen Sklerotien der Typhula bedeckt waren. Es handelte sich allerdings um schlecht entwickelte, schwächliche Pflänzchen. Immerhin schienen die Funde darauf hinzuweisen, daß diese Typhula-Art nicht nur als reiner Saprophyt lebte, sondern auch zum Befall und zur Abtötung schwacher Pflanzen imstande war.

Eine genaue Untersuchung von Rapsschlägen in Holstein, in denen abgestorbene junge Pflanzen häufig waren, ergab zwar des öfteren die Anwesenheit von Typhula-Sklerotien an den Blatt- und Stengelresten der toten oder gipfeldürren Pflanzen. Es war jedoch kein Anhaltspunkt gegeben, der für die bestimmte Annahme eines primären Typhula-Befalls sprechen konnte. Im Gegenteil, für die eigenartige, weit verbreitete Triebdürre waren andere Ursachen, unter Umständen solche nicht parasitärer Art anzunehmen. Ob Frost die Schuld hatte, war nicht bestimmt zu sagen, da der Winter verhältnismäßig mild gewesen war. Dennoch ist die Teilnahme des Typhula-Pilzes an den allgemein als Auswinterungsschäden bezeichneten Erscheinungen nicht ausgeschlossen. Nähere Untersuchungen über die Biologie dieses Pilzes würden also nicht bedeutungslos sein.

Die Artzugehörigkeit ließ sich nicht sicher bestimmen, da die Sklerotien, gleich welcher Herkunft, sehr geringe Neigung zum Keimen zeigten und ein ausgebildeter Fruchtkörper nicht zu erhalten war. Dagegen konnte Myzel eines Typhula-Stammes isoliert werden, das auf Agarnährböden gut wächst und sehr schnell zur Sklerotienbildung übergeht. Erdinfektionen mit diesem Myzel führten im Sommer zu keinem Ergebnis. Es ist auch anzunehmen, daß Versuche in der kalten Jahreszeit, in der der Pilz im Freien sichtbar auftritt, erfolgversprechender sind.

Mit weiteren Pilzarten, die als Schädlinge von Raps und Rübsen bekannt sind, wurden keine eigenen Untersuchungen angestellt. Über Plasmodiophora brassicae Wor., die außer an Kohl an vielen anderen Cruciferen, besonders Brassica-Arten auftreten kann, besteht eine reiche Literatur.

In diesem Rahmen sind eingehende Untersuchungen aus Neuseeland über das Auftreten von Hernie an Raps und ihre Bekämpfung von Interesse (Gibbs, 1931).

Nach diesem Autor bestehen bei Plasmodiophora brassicae keine biologischen Rassen. Als Bekämpfungsmittel erwies sich gebrannter Kalk, 3—4 Monate vor der Saat gestreut, erfolgreich. Mit den Samen wird der Pilz nicht übertragen, und bei später Saat tritt nach den Beobachtungen der Neuseeländer Bauern die Krankheit weniger heftig in Erscheinung. Sonstige Verhütungsmaßnahmen sind in der Hauptsache: Vermeiden zu häufiger Wiederkehr von Kreuzblütlerfrucht auf demselben Feld, Ausrotten der kreuzblütigen Unkräuter und Vermeidung einseitiger Stallmistdüngung (vgl. Flugbl. der Biol. Reichanstalt 152/154).

Ein weiterer Cruciferenschädling, der sich besonders stark in Neuseeland bemerkbar macht, aber auch neuerdings in Deutschland (vor allem in Holstein) an Kohl beträchtlichen Schaden verursacht, ist Phoma lingam (Tode) Desm. Über das Auftreten dieses Pilzes an Kohlrübe und Raps und seine Bekämpfung sind von Cunningham (1927) und Neill u. Brien (1933) Untersuchungen angestellt worden. Eine ausführliche Arbeit über Phoma lingam als Ursache von Krebs und Trockenfäule der Kohlrüben von Buddin (1934) erweitert und berichtigt die Ergebnisse Cunninghams. Phoma lingam ist der Erreger der schlimmsten Krankheit von Kohl- und Steckrüben. Neill u. Brien beobachteten, wie auch Raps, der nach Kohlrüben gesät war, durch Phoma-Fäule stark geschädigt wurde. Der Pilz kann mit den Samen übertragen werden. Die an den erkrankten Sämlingen erzeugten Pyknosporen werden durch Regen auf benachbarte Pflanzen versprengt, wodurch kleine rundliche Befallsherde im Felde entstehen. Eine Bekämpfung des Pilzes ist durch Heißwasserbeize der Saat möglich.

Meldungen über ein Auftreten von Phoma lingam an Raps in Deutschland sind bisher nicht eingegangen. Da aber die Möglichkeit besteht, daß der Schädling sich früher oder später auch bei uns an Raps bemerkbar macht, sind eigene Untersuchungen mit diesem Pilz in die Wege geleitet worden.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit will zur Klarstellung des Angriffsvermögens und der wirtschaftlichen Bedeutung einiger parasitischer Pilze beitragen, die in Deutschland an Raps und Rübsen auftreten. Dabei sind folgende Ergebnisse herauszustellen:

1. Alternaria brassicae, bekannt als Erreger der Schwärzekrankheit, ist imstande, auch Keimpflanzen bei hoher Luftfeuchtigkeit anzugreifen und stark zu schädigen. Diesem Umstand dürfte jedoch für die Praxis geringe Bedeutung zukommen.

2. Einige physiologisch verschiedene Stämme von Rhizoctonia solani (Hypochnus solani) zeigten auch gegenüber Raps und Rübsen ein verschiedenes Verhalten: „Var. typica" Schultz, die auf Kartoffeln recht häufig ist, wurde an den Wurzeln von Rapspflanzen beobachtet. Während der durch diese Varietät hervorgerufene Schaden wahrscheinlich in einer mechanischen Behinderung der Wurzeltätigkeit bestand, erweist sich eine andere, „var. brassicae" Schultz, als sehr verderblich für junge Pflanzen von Raps und Rübsen. Zur Verhütung derartiger Schädigungen, die zwar anscheinend selten beobachtet wurden, auf die aber mehr zu achten wäre, ist eine Fruchtfolge Kartoffel-Ölfrucht nach Möglichkeit zu vermeiden.

3. Die Hanf- und Rapskrebs verursachenden Formen von Sclerotinia sclerotiorum sind physiologisch nicht verschieden. Mit Asko-

sporen und Myzel eines Hanfstammes ließ sich Raps ohne Schwierigkeit infizieren.

4. Schädigungen durch Botrytis cinerea können bei ungünstigen Orts- und Witterungsverhältnissen Bedeutung gewinnen. Ein tödlich wirkender Befall wird durch Wachstumshemmungen irgendwelcher Art vorbereitet.

5. Dem gelegentlichen Auftreten von Erysiphe communis und Peronospora brassicae kann keine wirtschaftliche Bedeutung zugesprochen werden.

6. Es wird auf das Vorkommen von Typhula sp. an ausgewinterten Rapspflanzen hingewiesen.

7. Phoma lingam, als Erreger einer Trockenfäule an kohlartigen Pflanzen von Bedeutung, befällt nach ausländischen Erfahrungen auch Raps. Da in Deutschland neuerdings die Phoma-Fäule stellenweise an Kohl beträchtlichen Schaden anrichtet, ist in Zukunft auf ein Auftreten des Pilzes an Ölraps besonders zu achten.

Schrifttum.

Cunningham, G. H., Dry rot of swedes and turnips: its cause and control. (New Zealand Dept. of Agr. Bull. Vol. 133. 1927.) — Frank, B., Die Krankheiten der Pflanzen. 2. Aufl. Bd. 2. 1896. S. 493. — Gibbs, J. G., Club root in cruciferous crops. Investigation by Plant Research Station. (New Zealand Journ. of Agr. Vol. 42. 1931. p. 1.) — Klemm, M., Die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge an Raps und Rübsen. (Dtsch. Landw. Presse. Bd. 65. Berlin 1938. S. 239.) — Matsumoto, T., Physiological specialisation in Rhizoctonia solani K. (Ann. Missouri Bot. Gard. Vol. 8. 1921. p. 1.) — Neill, J. C. und Brien, R. M., Occurrency of dry rot on rape and Chou Moellier in the field. (New Zealand Journ. of Agr. Vol. 47. 1933. p. 19.) — Rudorf, W., Untersuchungen zur Züchtung von kleekrebsresistenten Kleearten und Luzerne. Ausarbeitung von Infektionsmethoden. Vorl. Mitt. (Züchter. Bd. 9. 1937. S. 249.) — Schultz, H., Vergleichende Untersuchungen zur Ökologie, Morphologie und Systematik des „Vermehrungspilzes“. (Arb. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. Bd. 22. 1936. S. 1.) — Thomas, S. K., Onderzoekingen over Rhizoctonia. Dissert. Utrecht 1925. Van Poeteren, N., Verslag over de werksamheden van den Plantenziektenkundigen Dienst in het jaar 1930. (Versl. en Meded. Plantenziektenkund. Dienst te Wageningen. Bd. 64. 1931. S. 18.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Smith, G., An Introduction to industrial Mycology. London, Verlag Edward Arnold & Co., 1938. XII + 302 p. Preis 16 sh.

Verf. will mit diesem Buch, für das H. Raistrick ein Vorwort geschrieben hat, insbesondere denjenigen eine Einführung in das Gebiet der technischen Mykologie vermitteln, denen die botanische Vorbildung fehlt oder „denen es schwer fällt, die spezielle Terminologie der mykologischen Literatur zu erlernen“ und die sich, wie z. B. viele Chemiker, auf industriellem Gebiet mit der Gewinnung von Fetten, Proteinen, organischen Säuren, Vitaminen und anderen rein synthetisch nicht oder schwieriger herstellbaren chemischen Stoffen auf biologischem Wege beschäftigen wollen oder müssen.

Demzufolge wird der Leser zunächst in knapper gemeinverständlicher Form mit den Termini der allgemeinen Morphologie und Klassifizierung der Pilze vertraut gemacht, dann werden ihm in einzelnen Kapiteln die wirtschaftlich wichtigsten Vertreter der Zygomyceten, Ascomyceten, der Fungi imperfecti (unter diesen auch die Actinomyceten?) vorgeführt. Die Gattungen Aspergillus sowie „Penicillium und verwandte Genera" werden in Sonderabschnitten behandelt.

Es folgen Kapitel über die Laboratoriumsausstattung und die Kulturtechnik, über die Physiologie der Schimmelpilze, über Unterhaltung einer Kulturensammlung, über Verhütung von Schimmelpilzentwicklung und über den industriellen Gebrauch von Pilzen.

Außer dem jedem Einzelabschnitt jeweils beigegebenen wesentlichen Schrifttum findet sich am Schluß zu erweitertem Studium noch ein gut ausgewähltes Verzeichnis mykologischer Literatur.

Das Buch ist sehr flüssig geschrieben und mit 126 meist außerordentlich anschaulichen mikrophotographischen Abbildungen versehen, die gerade dem Nicht-Botaniker die Bestimmung industriell wichtiger Pilze wesentlich erleichtern dürften. *Stapp.*

Weber, H., Grundriß der Insektenkunde. Jena, Verlag Gustav Fischer, 1938. XII, 258 S., gr.-8°, 154 Textabb. 12, geb. 13,50 RM.

Der Grundriß der Insektenkunde stellt nicht eine Kürzung des vom Verf. herausgegebenen „Lehrbuch für Entomologie" (Jena, Verlag Gustav Fischer, 1933) dar, sondern ein ganz neues Werk. Auch die Abbildungen sind zu zwei Dritteln neue Originale des Verf.s.

Arbeitsgebiete und Text sind ohne Betonung ihrer Bedeutung nach sehr sorgfältig ausgewählt. In dem Grundriß sind die grundlegenden Begriffe, wie Zelle, Zellteilung, Epithel, Vererbung usw. als bekannt vorausgesetzt, was durchaus gerechtfertigt ist, da nicht ein Grundriß der Zoologie, sondern der Entomologie geschaffen werden sollte.

Der erste Hauptteil bringt die wichtigsten entwicklungsgeschichtlichen, entwicklungsphysiologischen, morphologischen und physiologischen Erkenntnisse. Der zweite Hauptteil stellt die größeren systematischen Einheiten zusammen. Die eingehende, mit zahlreichen Bildern versehene systematische Kennzeichnung bietet dem Anfänger die wichtigste Grundlage für das Verständnis der systematischen Zusammenhänge. Der dritte Hauptteil schließt den Grundriß ab mit der Schilderung der Umweltbeziehungen der Insekten, einschließlich ihrer Beziehungen zu dem Menschen.

Besonders gut ist es gelungen, dem Buch einen großen didaktischen Wert zu verleihen, einmal wegen der sorgfältigen Auswahl und Abwägung des Stoffes für den kurzen zur Verfügung stehenden Raum, sodann durch die sehr gut gelungene Darstellung. Die Abbildungen sind zum großen Teil schematisiert, jedoch unter Beibehaltung einer sehr anschaulich wirkenden Naturtreue.

Der vorliegende Grundriß ist vor allem dem Bedürfnis der Studenten angepaßt, die tieferen Einblick in die Entomologie haben wollen, als ihnen ein Lehrbuch der Zoologie oder eine allgemein zoologisch-anatomische Vorlesung bieten kann. Zugleich ist das Buch sehr wertvoll als billiges Nachschlagewerk für Liebhaberentomologen, Sammler, und vor allem wegen des didaktischen Wertes für Lehrer, welche die Kosten für ein großes Handbuch nicht aufbringen können. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Allgemeines und Methodisches.

Utsunomiya, K., Neues Züchtungsröhrchen für die Hochschichtkultur. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 141. 1938. S. 95—96.)

Das Züchtungsröhrchen besteht aus einem dickwandigen, bodenlosen Glaszylinder, dessen Unterteil an der Außenseite abgeschliffen ist und in ein innen abgeschliffenes Näpfchen tief hineinreicht. Die Verbindung der beiden Teile ist eine so innige, daß keine Flüssigkeit durch die Einsatzstelle heraussickern kann. Für die Untersuchung gewachsener Kolonien wird der Zylinder durch leichtes Drehen und Ziehen abgehoben; der Nährboden haftet am Boden und kann frei geprüft werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hettche, H. O. und Münch, H., Die Verwendung von Kieselsäurenährböden bei der bakteriologischen Untersuchung von Wasser und Abwasser. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 119. 1938. S. 168—177.)

Bei Verwendung von Kieselsäure als gelierendes Agens an Stelle von Agar ergeben sich folgende Vorteile: 1. Ein Auflösen und Filtrieren ist nicht erforderlich; 2. eine Schädigung der Bakterien durch zu hohe Temperatur, wie sie bei gelöstem Agar eintreten kann, ist nicht möglich; 3. da ein Wiederauflösen entfällt, besteht nicht die Gefahr der p_H-Änderung; 4. Kieselsäure ist billiger als Agar. Keimzahlbestimmungen in Wasser ergeben Werte, die ungefähr in der Mitte zwischen den in Agar und Gelatine erhaltenen Zahlen lagen.

Die Kieselsäure wird in Form von 6proz. Wasserglaslösung verwendet, der zum Gelieren 25proz. H_3PO_4 zugesetzt wird (diese hat sich wegen ihrer Pufferung besser bewährt als Essigsäure). Die Festigkeit dieser Gallerte entspricht ungefähr der einer 2,5proz. Agargallerte. Die Phosphorsäure ist stets frei von Mikroorganismen. In Silikat wurden zwar mitunter Pilzsporen gefunden, die sich jedoch nur bei einem p_H zwischen 4 und 6 vermehrten; es kann also praktisch ebenfalls als steril angesehen werden. Zur einmaligen Einstellung des Silikats auf p_H 7,5 verfährt man am besten in der Weise, daß 10 ccm Wasserglas mit 200 ccm ausgekochtem und abgekühltem Aqua dest. verdünnt und nach Zugabe von Phenolphthalein mit 25proz. H_3PO_4 bis zur Entfärbung titriert werden, wozu etwa 5 ccm nötig sind. Die genaue Einstellung erfolgt dann durch p_H-Bestimmungen nach Zugabe von jeweils 0,1 ccm H_3PO_4. Als Nährbodengrundlage hat sich besonders Cenovis-Hefeextrakt (1%) und Pepton „flüssig" der Verbandstoff- und pharmaz. Fabrik Ulm-Fkm., Frankfurt a. M., Ludwigstraße, (1%) bewährt. Dieses Pepton hat vor anderen den Vorzug, daß sich im Nährboden keine Kristalle bilden, die beim Auszählen stören. Die Nährbouillon ist auf p_H 7,5 einzustellen. Sie wird zweckmäßig in Kölbchen zu je 90 ccm vorrätig gehalten. Hierzu fügt man, wenn Platten gegossen werden sollen, 6 ccm Wasserglas und weiter unter kräftigem Schütteln die entsprechende Menge H_3PO_4. Zu jeder mit 1 ccm Untersuchungsmaterial beschickten Platte gibt man dann aus einer Pipette mit weiter Öffnung sofort (innerhalb von 5 Min.) 10 ccm Nährboden. Die Erstarrungszeit beträgt etwa 8 Min. Nach 10 Min. werden die Platten umgedreht, mit Pappfilzen versehen (wegen des in erheblicher Menge austretenden Quetschwassers) und bebrütet. Die Filze sollen aus saugfähiger Pappe von 2 mm Dicke bestehen (Fa. Herb, München, Nymphenburger Str. 121), 9 cm lang und 3 cm breit sein. Zur Erhöhung ihrer Saugfähigkeit werden sie 1 Std. in 10proz. $CaCl_2$-Lösung gelegt. Nach der Trocknung (durch 1stünd. Erhitzung auf 100°) werden sie an der Schmalseite mit einem scharfen Messer soweit abgeschrägt, daß nach dem Eindrücken in den Deckel der Petrischale der Abstand zwischen Deckel und Platte möglichst gering ist. Sie sind mehrmals verwendbar, wenn sie nach Gebrauch wieder getrocknet werden (20 Min. bei 100°). Zur Aufbewahrung der Filze eignen sich Exsikkatoren.

Der Kieselsäurenährboden ist auch zur Feststellung der Coli-Keimzahl geeignet, nur ist in diesem Fall ein Zusatz von 10% 30proz. Milchzuckerlösung und 2,3% 1proz. Bromthymolblaulösung (in 50proz. Alkohol gelöst) erforderlich. In dieser Form lassen sich bis zu 5 ccm Wasser auf Coli prüfen (in Drigalski-Schalen unter Verwendung von 50 ccm Nährboden). Es können aber sogar Wassermengen bis zu 100 ccm untersucht werden, wenn man den Nährboden in doppelter Konzentration gebraucht und durch

die zu untersuchende Wassermenge auf die Hälfte verdünnt. Sollen z. B. 100 ccm Wasser geprüft werden, so setzt sich der Nährboden zusammen aus 58 ccm Nährlösung (2% Cenovis, 2% Pepton), 20 ccm 30proz. Milchzuckerlösung, 4,6 ccm Bromthymolblaulösung, 12 ccm Wasserglas. Hierzu wird unter kräftigem Schütteln die 25proz. H_3PO_4 (ca. 6,6 ccm) hinzugefügt, und anschließend sofort das zu untersuchende Wasser. Die Mischung wird in 3—4 Drigalski-Schalen ausgegossen. Nach dem Erstarren werden in die Deckel 3 Filzstreifen zwecks Trocknung eingelegt. Bebrütung 24 Std. bei 37°.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Dammann, E., Steril-Inkubator zur Massenzüchtung von Erregern. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 141. 1938. S. 93—94.)

Der Steril-Inkubator wird von der Fa. Rudolf Hasse, Berlin O 27, Andreasstr. 21, bis zu 7 Etagen hergestellt. In jeder Etage befinden sich 2 Schalen aus Jenaer Glas, von denen jede etwa 3,5 Liter Flüssigkeit faßt. Die Schalen sind mit Glasdeckel versehen, die durch Hebeldruck von außen gehoben und gesenkt werden können (zwecks Regulierung der Belüftung). Am oberen Teil des Schrankes befindet sich ein elektrisch geheizter Dampfentwickler, der es ermöglicht, im Brutschrank selbst die Sterilisation vorzunehmen. Die eintretende Außenluft wird durch eine elektrische Heizvorrichtung durch Erhitzung auf etwa 400° sterilisiert. Diese heiße Luft wird dann durch 2 Metallkühltrommeln abgekühlt und entweicht wieder durch eine am oberen Teil des Schrankes angebrachte Entlüftungsvorrichtung. Es ist also für eine ständige Luftumwälzung gesorgt. Die Impfung der Nährlösung erfolgt durch einen zu jeder Schale gehörigen Tubus, der durch eine mit Watte gefüllte Kappe geschlossen ist.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Weiß, R., Ein neuer Glas-Knopf-Spatel. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 142. 1938. S. 105—110.)

Es wird ein Spatel beschrieben, der zum Ausstreichen von Material auf Nährbodenplatten weit besser geeignet ist als der Drigalski-Spatel, da er eine gleichmäßigere Verteilung des Materials ermöglicht und eine Verletzung des Agars nicht mehr eintreten kann. Es handelt sich um einen Glasknopf, dessen Ausstrichfläche einen Kreis von 15 mm darstellt. Aus dem Knopf ragt ein 2 cm langer Stiel heraus, der am oberen Ende zu einem Häkchen umgebogen ist. Dieses ermöglicht die Entnahme aus der Sterilisierschale und wird zum Ausspateln mit der Platinöse benötigt. Der Glasknopf wird dabei auf das zu untersuchende Material gesetzt, und unter leichtem Druck der Öse auf den Knopf wird die Platte gleichmäßig auspoliert. Sobald der Knopf auf die Flüssigkeit kommt, schwimmt er fast von allein hin und her. Ein Nachlassen dieser guten Gleitfähigkeit zeigt an, daß das Material verstrichen ist (vorausgesetzt, daß nicht über 0,1 ccm verwendet worden ist).

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Kirstein, F. und Fleischer, M., Eine einfache Methode zur längeren Konservierung von empfindlichen Bakterienkulturen, insbesondere von Gono- und Meningokokken. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 141. 1938. S. 201—202.)

Durch Überschichtung von gut gewachsenen Schrägagarkulturen mit Paraffinum liquidum und Aufbewahrung bei optimalen Temperaturen blieben leicht zugrundegehende Bakterienarten (Gonokokken, Meningokokken, Pneumokokken, Influenzabakterien) über 4 Monate lebensfähig. Diese lange Haltbarkeit wird darauf zurückgeführt, daß durch das Fernhalten des Luftsauerstoffs die Säuerung des Nährbodens und die Bildung von Peroxyden verhindert wird. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Johannson, A., Die Grundlagen einiger Bakterienfärbungen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 141. 1938. S. 424—442.)

Auf Grund von Reagenzglasversuchen werden nach dem Verhalten gegenüber Farbstofflösungen 3 Gruppen von Reagenzien unterschieden: 1. Rein physikalisch, nur verdünnend wirkende Substanzen, zu denen außer Wasser, Alkohol, Azeton, Borsäure, Formalin und wahrscheinlich sämtliche organische Säuren gehören. 2. Reagenzien, die in geringen Mengen die Färbung verstärken unter Bildung eines Niederschlages, in größeren Mengen dagegen zur Entfärbung des Farbstoffes führen. Hierher gehören die starken Mineralsäuren (Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Chromsäure, Pikrinsäure), Natronlauge, Kalilauge, Ammoniak, Natrium sulfurosum, Kalzium hypochlorit. 3. Substanzen, die mit der Farblösung ebenfalls einen dunklen Niederschlag geben, der sich aber auch bei Überschuß des Reagens nicht löst. Es handelt sich um Jod und die meisten Salze.

Fügt man zu den durch Behandlung mit Reagenzien der 3. Gruppe undurchsichtig gewordenen Farbstoffen Reagenzien der 1. Gruppe hinzu, so lösen sich die Niederschläge und die Farblösung nimmt ihre ursprüngliche Farbe wieder an. Aber auch die durch Behandlung mit Reagenzien der 2. Gruppe entfärbten Farbstoffe lassen sich in dieser Weise regenerieren, wenn der Überschuß des entfärbenden Reagens nicht zu groß war. Es ergibt sich hieraus die Wichtigkeit des guten Auswaschens mit Wasser, weil dadurch in entfärbten Bakterien die Säure verdünnt wird und die Farbe wieder hergestellt werden kann. Bei Anwendung stärkerer Lösungsmittel (Alkohol) besteht dagegen die Gefahr, daß auch die Farbreste ausgewaschen werden.

Durch das färberische Verhalten des Tuberkelbakteriums konnte nachgewiesen werden, daß die säurefesten Stäbchen nicht nur eine Wachshülle haben, sondern durch und durch mit Wachs getränkt sind.

Die Much schen Granula sind färberisch mit den Neisser schen Polkörnchen identisch. Hieraus eine nähere Verwandtschaft zwischen Tuberkel- und Diphtheriebakterien ableiten zu wollen, ist schon deshalb abwegig, weil auch Sporenbildner dieselben Körnchen zeigten.

Da die Gramfärbung und die Färbung der Neisser schen Polkörnchen auf einer besonders starken Affinität der Bakterien bzw. Polkörnchen zu den verschiedenen Farbstoffen und Reagenzien beruhen, besteht die Möglichkeit, sie auch mit stark verdünnten Farbstoffen auszuführen. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Hettche, H. O., Die Prüfung von Trockensterilisatoren. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 120. 1938. S. 129—146.)

Bei Sterilisatoren mit ruhender Heißluft wird bei Beheizung von unten das untere Fach am schnellsten erwärmt und erreicht viel höhere Temperaturen als das obere Fach.

Die Prüfung eines Apparates mit bewegter Heißluft ergab, daß die vom Thermometer angezeigten Temperaturen über den für das Sterilisationsgut thermoelektrisch ermittelten Werten lagen. Im Zentrum des Sterilisiergutes wurde eine nahezu konstante Temperatur erst 6 Min. nach Einsetzen der automatischen Temperaturregelung erreicht. Die Abkühlung des Sterilisiergutes erfolgt relativ schnell, sie verläuft am langsamsten in der Nähe des Ventilators.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Urbach, H. und Hummel, W., Experimentelle Untersuchungen in neueren zahnärztlichen Instrumentensterilisatoren mit ruhender und bewegter Heißluft. II. Mitteilung: Bakteriologischer Teil. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 119. 1938. S. 311—324.)

Die Abtötung von Keimen erfolgt in bewegter Heißluft rascher als in ruhender. Für Erdsporen als Testmaterial ergab sich z. B. in bewegter Heißluft Sterilität bei 180° in 20 Min., in ruhender Heißluft nach 30 Min. Bei Temperaturen über 200° verschwanden die Differenzen. Temperaturen unter 160° sind zur Sterilisation ungeeignet.

Die Absterbegeschwindigkeit wird wesentlich von den Keimunterlagen beeinflußt und hängt von deren Wärmeabsorption ab. Keime an der Oberfläche eines Trägers wurden schneller abgetötet, wenn die Unterlage aus Glas bestand, unabhängig von der Materialart des Keimträgers (Glas, Metall, Leinen). Maßgebend ist hierbei die Temperatur des vorbeistreichenden Heißluftstromes, die wegen der geringeren Wärmeabsorption bei Glasunterlage höher ist als bei Metallunterlage. Die Abtötung erfolgt dagegen rascher auf einer Metallunterlage, wenn sich die Keime zwischen 2 Keimträgern befinden; denn in diesem Fall ist für die Abtötungsdauer nur die Wärmeabsorption der Unterlage ausschlaggebend. Da das spezifische Wärmeleitungsvermögen von Metall

größer ist als von Glas, muß auf der Metallunterlage stets die schnellere Keimabtötung erfolgen. Je nach der Versuchsanordnung wurden Schwankungen in den erforderlichen Sterilisationszeiten von 5—60 Min. beobachtet.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hagemann, P. K. H., Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über Virus- und andere Mikroben. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 184—187.)

Für alle Mikroorganismen besteht die Möglichkeit der fluoreszenzmikroskopischen Sichtbarmachung, die auf einer An- oder Einlagerung fluoreszierender Moleküle begründet ist. Es kommen drei Verfahren in Betracht: 1. Die von v. Jancsó-Fischl-Schwenksche Methode, die darin besteht, daß geeignete fluoreszierende Chemotherapeutika einem mit Mikroorganismen, speziell Protozoen, infizierten Tier eingespritzt werden. Die Chemotherapeutika werden von den Mikroben gespeichert, und diese sind dann im Blutpräparat fluoreszenzmikroskopisch nachweisbar. 2. Der Zusatz fluoreszierender Stoffe (z. B. Äskulin), die von den Mikroorganismen gespeichert werden, zu festen oder flüssigen Nährböden. 3. Die Behandlung trockener Ausstriche mit Fluorochromen nach dem vom Verf. ausgearbeiteten Verfahren. Als Fluorochrome kommen hauptsächlich in Frage: Berberinsulfat, Primulin, Morin, Thioflavin S, Auramin O. Die Leuchtkraft der fluoreszenzgefärbten Mikroorganismen ist so groß, daß im allgemeinen die Beobachtung bei etwa 200facher Vergrößerung mit (apochromatischem) Trockenobjektiv genügt. Selbst Vira sind damit noch feststellbar, doch wird hierfür 600fache Vergrößerung (und gleichfalls Trockenobjektiv) empfohlen. Wenn heute noch gewisse Virusarten unsichtbar sind, so wird dies darauf zurückgeführt, daß sich diese entweder schwer anfärben lassen oder daß sich zuviel andere Gebilde mitfärben und dadurch das Fluoreszenzbild unübersichtlich gestalten. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

v. Borries, B., Ruska, E. und **Ruska, H.**, Bakterien und Virus in übermikroskopischer Aufnahme (mit einer Einführung in die Technik des Übermikroskops). (Klin. Wochenschr. Jahrg. 17. 1938. S. 921—925.)

Das Übermikroskop stellt eine Weiterentwicklung des magnetischen Elektronenmikroskopes dar. Da Elektronenstrahlen nur im Vakuum existieren können und für das Auge nicht unmittelbar sichtbar sind, muß ein elektronenoptisch betrachtetes Objekt ebenfalls ins Vakuum gebracht werden. Das entstehende Bild muß deshalb durch einen Leuchtschirm oder durch die photographische Platte sichtbar gemacht werden. Bezüglich Einzelheiten über Apparatur und über ihre physikalischen Grundlagen muß auf das Original verwiesen werden. Im Anschluß an diese Beschreibung werden noch einige Ergebnisse der übermikroskopischen Bakterien- und Virusdarstellung mit 20 000facher Vergrößerung mitgeteilt: Coli-, Typhus- und Paratyphusbakterien lassen ohne Anwendung von Färbemethoden — wie aus den beigefügten Aufnahmen ersichtlich ist — äußerst vielfältige Innenstrukturen erkennen. Die Erreger der Y-Ruhr und der Shiga-Kruse-Ruhr sind morphologisch und durch die verschiedene Art von Begleitkörperchen unterscheidbar. Die Ruhrbakterien zeigen außerdem Hüllen, ebenso wie die Bangbakterien. Diese wiederum fallen weiter durch einen an ihrem Innenkörper sichtbaren eigenartigen Formenwechsel auf.

Ein besonderer Vorteil des Übermikroskopes ist die Möglichkeit, Vira ohne Anwendung von Färbeverfahren zur Darstellung zu bringen. Es gelang

dies bisher bei den Elementarkörperchen der Pocken, der Elektromelie und des Myxoms. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virus-Untersuchungen.

Dold, H., Neue Beobachtungen über antibakterielle Hemmungsstoffe (Inhibine) und antibakterielle Wandlungsstoffe (Mutine). (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. H. 3/8. 1937. S. 265—267.)

Die Inhibine sind nicht identisch mit den Lysozymen Flemings. Sie unterscheiden sich von ihnen in der Wirkungsart, Wirkungsbreite und in ihrem Verhalten gegenüber gewissen chemischen und physikalischen Agenzien. Es wird weiter erneut der Beweis erbracht, daß die Inhibinwirkung nicht auf Bakterienantagonismus beruht. Es bestehen nämlich keine Beziehungen zwischen der Hemmungswirkung der Sekrete und ihrem Bakteriengehalt. Außerdem entfalten die in den bakterienhaltigen Sekreten enthaltenen Keime bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse für sich allein keine Hemmungswirkung und schließlich ist es gelungen, in keimarmen und keimfreien Sekreten die gleiche und sogar noch stärkere Hemmungswirkung nachzuweisen, z. B. in aseptisch gewonnener Kuh- und Frauenmilch, in steriler Galle, im Honig, auf der Schnittfläche (Wundsekret) roher Kartoffeln, Gurken, Bananen usw.

Die Mutinwirkung konnte hinsichtlich Pathogenität und Farbstoffbildungsvermögen nachgewiesen werden: Auf 50proz. Speichelagar verloren sowohl Diphtheriebakterien als auch Pneumokokken ihre Virulenz. Diese Abwandlung war nur bei frühzeitiger Rückimpfung auf Blutagar reversibel, in einem späteren Stadium jedoch nicht mehr. Bact. prodigiosum zeigte auf 50proz. Rohmilch-Agarplatten (bei massiver Beimpfung, so daß die Inhibine nicht zur Wirkung kommen konnten) violette, bei Verwendung von erhitzter Milch karminrote Farbe. Auch Microc. pyog. aureus und Bact. pyocyaneum wurden durch Rohmilch in ihrem Farbstoffbildungsvermögen erheblich gehemmt.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Berg, A., Über die Ursachen der Hemmungswirkung des Speichels auf das Wachstum von Kapselbakterien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 120. 1938. S. 450—460.)

Die Versuche widerlegen die Ergebnisse von Prica, der die Hemmungswirkung des Speichels gegenüber Kapselbakterien in der Hauptsache auf antagonistische Einflüsse der Speichelbakterien zurückführte und die Inhibine in dieser Beziehung — im Gegensatz zu Dold — für weniger wichtig hielt. Die Auffassung von Dold konnte durch Versuche auf Agarplatten bewiesen werden. Die Hemmungswirkung durch Speichelbakterien war erst dann feststellbar, wenn die Speichelbakterien in solchen Mengen einwirkten, wie sie im Speichel kaum vorkommen. Außerdem führte die Erhitzung des Speichels zur Vernichtung der Hemmungswirkung, obgleich die antagonistisch wirkenden Stoffwechselprodukte der Speichelbakterien — im Gegensatz zu den Inhibinen — sich als thermostabil (½ Stunde bei 56°) erwiesen. Selbst ein erneuter Zusatz von Speichelbakterien führte nicht zur Reaktivierung der Hemmungswirkung. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Moser, F., Untersuchungen über die Einwirkung von Rindergalle auf einige Bakterien- und Virusarten. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. H. 3/8. 1937. S. 180—183.)

Bei den im Schrifttum beschriebenen Versuchen über die Einwirkng von Rindergalle auf die verschiedenen Bakterien- und Virusarten ist vielfach die in erheblichem Umfang schwankende Zusammensetzung der Rindergalle nicht berücksichtigt worden. Allein die p_H-Werte der geprüften Gallen bewegten sich in rohem Zustand zwischen 6,72 und 7,73. Sterilisieren bewirkt eine erhebliche Veränderung der p_H-Zahl. Es wurde z. B. ein Anstieg von 7,07 auf 8,70 festgestellt. Hieraus lassen sich die einander häufig widersprechenden Versuchsergebnisse der verschiedenen Autoren wenigstens teilweise erklären. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Koblmüller, L. O., Über unterschiedliche Vermehrungstätigkeit bei Nachkommen einer Subtilisspore. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. H. 3/8. 1937. S. 297—301.)

Entgegen der heute noch allgemein anerkannten Weismannschen Lehre von der potentiellen Unsterblichkeit der Einzeller gibt es auch bei diesen nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen einen natürlichen, individuellen Alterstod. Während nach Weismann die beiden Teilstücke eines durch Teilung entstandenen Einzellers stets das gleiche Alter haben, ist aus Dauerbeobachtungen Verf.s an einem Heubazillenstamm zu schließen, daß die beiden Enden verschiedenen Alters sind. Es wurde nämlich festgestellt, daß bei dem geprüften kettenförmig wachsenden Stamm die Außenstäbchen ihre Vermehrung bei weitem früher als die Innenstäbchen einstellten. Die Zeit zwischen Versuchsbeginn (Auskeimung der Spore) und Vermehrungsstillstand des beobachteten Außenstäbchens schwankte zwischen 14 und 113 Std. Dem Tode gingen nicht selten Fadenbildung oder häkchenförmige Verkrümmung des alten Endes, häufig beides voraus. Im Innern der zugrundegehenden Stäbchen wurde oft eine Art „tropfiger Entmischung" beobachtet. Auf normal feuchtem Agar blaßten die nicht mehr weiter wachsenden Stäbchen ab, sie wurden schattenhaft und waren schließlich kaum mehr sichtbar. Auf alten, sehr trockenen Platten unterblieb gewöhnlich das Abblassen. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Gróh, E., Über die Entwicklung der Diphtheriebazillen. I. Teil: Glieder. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 141. 1938. S. 209—219.)

Das Diphtheriebakterium vermehrt sich angeblich nicht durch gewöhnliche Zweiteilung, sondern durch Fragmentation in Glieder. Der Entwicklungsgang soll bei 37° in 3 Phasen verlaufen, die folgendermaßen beschrieben werden: 1. Stadium der Segmentation. Dauer etwa 4—5 Std. In gramnegativen oder schwach grampositiven Stäbchen bilden sich quere Trennungswände, und die zwischen je 2 Trennungswänden befindlichen Stäbchenabschnitte werden zu stark grampositiven Gliedern. Durch deren weiteres Wachstum geht dann das Mutterstäbchen als solches zugrunde, doch halten Restteile die Glieder noch in einer Gruppe zusammen. 2. Stadium der kurzen Stäbchen (Dauer 10—14 Std.). Die in Gruppen befindlichen Glieder wachsen zu kurzen grampositiven Stäbchen aus, die sich meist in 2, mitunter in 3 Abschnitte gliedern. 3. Stadium der längeren gramnegativen oder gramlabilen Stäbchen (Dauer 6—8 Std.). Die Kurzstäbchen verlängern sich, worauf dann wieder die Segmentation einsetzt.

Die von verschiedenen Autoren in 24 Std. alten Kulturen beobachteten kokkoiden oder keulenförmigen oder fädigen Gebilde sind nach den Beobachtungen Verf.s keine Degenerationsformen, sondern in einem bestimmten Abschnitt der Entwicklung befindliche Formen. Sie sollen in 24stünd. Kulturen sehr langsam, nach Überimpfung auf frische Nährböden jedoch sehr schnell die weiteren Stadien der Entwicklung durchmachen.

II. Teil: Körnchen (S. 220—229).

Die Körnchen der Diphtheriebakterien sollen keine leblosen Gebilde (Reservestoffe) sein, sondern werden für lebende Zellen erklärt. Sie sollen sich immer an der Innenwand entwickeln, von dort gegen die gegenüberliegende Wand des Stäbchens

wachsen, allmählich das Innere des Stäbchens ausfüllen, dieses auftreiben und schließlich sprengen. Bei den freigewordenen Körnchen ist Entwicklung zu kurzen Stäbchen beobachtet worden, bei Übertragung auf frischen Nährboden angeblich immer.

In jungen Kulturen wurden die Körnchen vermißt; sie erschienen während der Segmentation. Ihr Auftreten wird damit erklärt, daß im Nährmedium irgendein Stoff sich anhäuft oder verbraucht wird. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Ivánovics, G., Das kulturelle Verhalten des Bacillus mesentericus vulgatus mucosus, insbesondere in bezug auf die Produktion der P-Substanz. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 142. 1938. S. 52—64.)

Bei schleimig wachsenden thermophilen Stämmen des Bac. mesenteris vulgatus konnten 2 Typen unterschieden werden. Der Unterschied wurde vor allem in dem Verhalten der entstehenden schleimlosen Varianten offenbar. Die Schleimbildung ging in einem Fall reversibel, im anderen Fall irreversibel verloren. Im letzteren Fall geriet zugleich das gruppenspezifische Hapten in Verlust. Es wird als Anhang des Ektoplasmas aufgefaßt und ist mit der spezifischen Substanz der Milzbrandbazillenkapsel (P-Substanz) identisch. An der Antigenstruktur des Bazillenkörpers war keine Veränderung zu beobachten.

Auf synthetischem Nährboden bildete Bac. mesentericus vulgatus unter bestimmten Bedingungen 2 Arten von Pigment. Ein rostbraunes Pigment entstand unter der Einwirkung von Eisenionen, ein gelbes durch den Einfluß von Manganionen. Das Eisenpigment fand sich vorwiegend in den Zellen, das Manganpigment vorwiegend im Nährboden. Daneben bestanden noch chemische Unterschiede.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Starkey, R. L., Spore-formation by the sulphate-reducing vibrio. (Proceedings, Nederland. Akad. Wetenschap. Vol. 41. 1938. p. 3—6.)

Das unter dem Namen Vibrio desulfuricans Beij. bekannte sulfatreduzierende Bakterium bildet, wie Verf. ermitteln konnte, gegen Hitze sehr widerstandsfähige Sporen. Diese entstehen unter natürlichen Lebensverhältnissen des Bakteriums in Erde, Schlamm, Wasser u. dgl., unter den Lebensbedingungen des Laboratoriums jedoch nur bei einer Temperatur von 45—55° C. Die Sporenbildung wird eingestellt, wenn das Bakterium einige Zeit bei Temperaturen unter 40° C gezüchtet wird. Umgekehrt werden unter sonst gleichen Bedingungen von einer sporenfreien, typischen Vibriokultur wieder Sporen erzeugt, wenn die Temperatur auf über 40° C gesteigert wird. Für derartige Vibrionen wird der Gattungsname Sporovibrio und für die vorliegende Art die Bezeichnung Sporovibrio desulfuricans Beij. nov. comb. in Vorschlag gebracht. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Mischustin, E. N., Die die Zellulose zersetzenden Myxobakterien. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 4. 1938. S. 427—444.) [Russisch.]

Der Artbestand der zellulosezersetzenden Bakterien spiegelt den Kulturzustand des Bodens wider (Versuchsboden: Podsolboden, Schwarzerde). In gut kultivierten Böden kommen Cytophaga und grün pigmentierte Vibrionen in größeren Mengen vor, dagegen Myxobakterien in geringeren Mengen; mittelgut kultivierte Böden enthalten geringe Mengen von Cytophaga und von grün gefärbten Vibrionen, dafür aber mehr von Myxo-

bakterien und Pilzen; in wenig kultivierten Böden überwiegt meist die Pilzflora. Der Artbestand der Mikroflora verändert sich in allen Bodentypen im Laufe der Vegetationsperiode, und zwar zum Herbst zugunsten der Pilze. Die meisten zellulosezersetzenden Myxobakterien im Boden gehören der Art Polyangium an und stehen dem von Imschenetzky beschriebenen Polyangium cellulosae sehr nahe. Verf. beschreibt vier Varianten von dem letzteren, und zwar Pol. cellulosae var. fuscum mit braunen Fruchtkörpern, P. c. var. ferrugineum mit dunkelroten, P. c. var. fulvum mit rot-gelben und P. c. var. luteum mit gelblich-orangen Fruchtkörpern. Die Fruchtkörperfarbe stellt ein konstantes Merkmal dar, welches von den Wachstumsbedingungen (Temperatur, Säuregrad usw.) unabhängig bleibt. Für die Schwarzerde ist das Vorhandensein von Pol. cellulosae var. ferrugineum, für den Podsolboden von Pol. cellulosae var. luteum charakteristisch. Von den aus den Versuchsböden isolierten Myxobakterien wird Angiococcus cellulosae ausführlich beschrieben. *M. Gordienko (Berlin).*

Krassil'nikow, N. A., Die Mykobakterien. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 4. 1938. S. 466—484.) [Russisch.]

Das Studium erstreckte sich auf ca. 300 aus verschiedenen Böden des Transwolga-Gebietes isolierten Mykobakterienstämme, wobei hauptsächlich die morphologischen und physiologischen Eigenschaften dieser ins Auge gefaßt wurden. Alle Stämme weisen anfänglich stäbchenartige, mehr oder minder gewundene Zellen von 1,5—2,0 μ Länge und 0,3—1,0 μ Durchmesser auf; am 3.—5. Tage verwandeln sie sich in Kokken um. Die Zellen der Mykobakterien sind unbeweglich, wenig widerstandsfähig gegen die Säure, grampositiv. Die Vermehrung geschieht durch Teilung und bei manchen Arten auch durch Sporenbildung. Die letztere kommt allerdings selten und nur bei manchen Arten vor, wobei der gesamte Sporenbildungsprozeß etwa so wie bei den Aktinomyzeten verläuft. Die Sporen sind gegen hohe Temperaturen wenig widerstandsfähig und sterben schon bei 60° im Laufe von 5—10 Min. ab. Die Knospung kommt bei jungen wie bei alten Kulturen vor. Die Mykobakterien wachsen fast auf allen Nährböden, wobei einige Arten die eiweißhaltigen, die anderen dagegen die synthetischen mit anorganischem N vorziehen. Alle rot-, rosa- bzw. orangegefärbten Stämme sind wenig aktiv (wie Mycobacterium rubrum Söhngen, M. hyalinum u. a.); stark aktiv sind die gelb-grünen Stämme (Mycobact. citreum usw.), die die Gelatine schnell verflüssigen, Saccharose invertieren, Milch peptonisieren. Die wichtigsten morphologischen und physiologischen Eigenschaften der Mykobakterien sind sehr beständig, bei Laboratoriumsbeobachtungen veränderten sie sich nicht im Laufe von 2—4 Jahren.

M. Gordienko (Berlin).

Korenjako, A. I., Die Wirkung der Salze auf das Wachstum der Actinomycetaceae. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 4. 1938. S. 515—524.) [Russisch.]

Das Wachstum der Aktinomyceten beginnt erst bei einer NaCl-Konzentration von über 5% unterdrückt zu werden, noch widerstandsfähiger sind die Aktinomyceten bezüglich des Na_2SO_4. Die Proaktinomyceten stellen sich bezüglich der Konzentration der Salze den Aktinomyceten analog. Bei geringer Konzentration (um 2%) wurde die stimulierende Wirkung der Salze auf das Wachstum der pigmentierten Proaktinomyceten beobachtet. Hohe Konzen-

trationen von NaCl und Na_2SO_4 unterdrücken die nicht-pigmentierten Proaktinomyceten sehr. Die Mykobakterien vertragen noch höhere Salzkonzentrationen als die Aktinomyceten und Proaktinomyceten; besonders widerstandsfähig erweisen sich auch bei diesen die pigmentierten Arten. Manche Stämme der Mykobakterien spalten unter der Wirkung der Salze auf und bilden dabei neue Rassen mit erhöher Widerstandsfähigkeit gegen diese. Dies geschieht meist bei einer Konzentration der Salze um 2,0—5,0%.

M. Gordienko (Berlin).

Nielsen, N. und Hartelius, V., Wuchsstoffwirkung der Aminosäuren. II. Versuche über den Einfluß des β-Alanins auf das Wachstum von Aspergillus niger. — III. Untersuchungen über die Wuchsstoffwirkung von β-Alanin, β-Alanylglycin, Asparaginsäure, Glycyl-Asparaginsäure und verwandte Stoffe auf Hefe. (C. R. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 22. 1938. p. 267—270, 271—280.)

Im Zuge der Untersuchungen der Einwirkung verschiedener Aminosäuren auf Schimmelpilze war festgestellt worden, daß eine mit Hefe ausgeschüttelte Bierwürze dieselbe Wirkung zeigte wie eine nicht-ausgeschüttelte Würze. Im Hinblick auf die Erfahrung, daß β-Alanin auf Hefe giftige Wirkungen ausüben kann, setzten Verff. der üblichen Nährlösung Asparagin, Glutamin und Vitamin B_1 zu. Sie konnten nun beobachten, daß in den Kulturen, die Bierwürzezusatz enthielten, eine erhöhte Trockensubstanzproduktion gegenüber der Kontrolle stattfand, daß β-Alanin keinerlei Wuchsstoffwirkung auf Aspergillus niger hervorruft, sondern im Gegenteil für diesen Pilz noch giftiger ist als für Hefe. Verff. erblicken gleichzeitig in diesen experimentellen Ergebnissen eine weitere Stütze für ihre Behauptung, daß die Wuchsstoffwirkung auf die Hefe durch das β-Alanin verursacht wurde. — In Kulturen von Saccharomyces cerevisiae wirkte β-Alanin giftig, dagegen in Gegenwart von Asparagin oder seiner Säure wachstumsfördernd. Versuche mit Präparaten von β-Alanin und Asparaginsäure, die durch Hydrolyse von β-Alanyl-Glycin und Glycyl-Asparaginsäure hergestellt waren, um jegliche Spur einer evtl. beeinflussenden Verunreinigung fernzuhalten, erwiesen deutlich die Wuchsstoffwirkung der beiden Aminosäuren, zumal die genannten Dipeptide vollkommen unwirksam waren.

Skallau (Berlin).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Wohlfeil, T. und Wollenberg, H., Die Bedeutung der Bakterienurease für die Differentialdiagnose und Typenbestimmung pathogener Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 281—287.)

Es wird eine Methode beschrieben, die es ermöglicht, sämtliche Bakterienarten auf harnstoffspaltende Fermente zu untersuchen. Das Verfahren ist insbesondere für solche Keime geeignet, die sich in Harnstoffbouillon nicht prüfen lassen, weil eine Nährbodensäuerung bzw. Nährbodenalkalisierung das Ergebnis der Harnstoffspaltung beeinflußt oder kein genügend starkes Wachstum auftritt. Die Methode wird mit m/15 Phosphatpufferlösung nach Sörensen ausgeführt. Dieser werden 1% Harnstoff zugesetzt, ihr p_H beträgt 7,0. Sie muß vorsichtig sterilisiert werden, sonst wird der Harnstoff zu kohlensaurem Ammonium hydrolysiert. Bei Verwendung von sterilem destillierten Wasser und chemisch reinen Reagenzien genügt in der Regel eine einmalige Sterilisation von 3—5 Min. Falls die Lösung doch einmal leicht alkalisch geworden sein sollte, muß Einstellung mit Salzsäure und erneute, ganz kurzfristige Sterilisation vorgenommen werden. Mit 10 ccm der Harnstoff-Phosphatlösung werden, je

nach der Stärke des Wachstums, 1—2 Schrägagarkulturen abgeschwemmt. Die Suspensionen müssen möglichst dicht sein. Bei Prüfung einzelner Kolonien verreibt man in 0,5—1 ccm Lösung; diese soll undurchsichtig getrübt werden. Die Verwendung dichter Bakterienaufschwemmungen macht die Prüfung vom Bakterienwachstum unabhängig, das im übrigen in der Harnstoff-Phosphatlösung fast vollkommen ausbleibt. Tritt also in der Phosphatlösung Harnstoffspaltung auf, so liegt sicher eine Ureasewirkung vor; andere fermentative Vorgänge können sich nicht auswirken. Die Prüfung erfolgt nach 24 und 48 Std. Aufbewahrung der Harnstoff-Phosphatpuffer-Bakterienaufschwemmung bei 37°, und zwar am besten bei Zusatz einiger Tropfen einer 1proz. alkoholischen Phenolphthaleinlösung. Da die Phosphatlösung eine erhebliche Pufferkapazität hat, liegt bei Alkalischwerden der Reaktion eine einwandfreie Harnstoffzersetzung vor.

Zur Prüfung sind nur frisch isolierte Kulturen geeignet. Bei längerer Fortzüchtung im Laboratorium gerät die Fähigkeit zur Bildung von Urease leicht in Verlust.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Wohlfeil, T. und Wollenberg, H., Über Fermenthemmung und -förderung bakterieller Fermente im infizierten Tierkörper. II. Wirkung von $Cu^{\cdot\cdot}$, $Hg^{\cdot\cdot}$, Monojodessigsäure, $Fe^{\cdot\cdot}$, Ferroaskorbinsäure, Phosphaten und Natriumzitrat auf den Ablauf der Milzbrandinfektion des Meerschweinchens und der Proteusintoxikation und -infektion des Kaninchens. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 141. 1938. S. 159—170.)

Durch Einspritzung obiger Substanzen konnten Infektionen des Tierkörpers z. T. gehemmt, z. T. beschleunigt werden. Diese Ergebnisse werden damit erklärt, daß die einverleibten Stoffe auf die proteolytischen Fermente der Infektionserreger hemmend bzw. fördernd einwirkten, also eine antiaggressive bzw. aggressive Wirkung entfalteten.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Wagner-Jauregg, Eiweiß als Bestandteil von Fermenten. (Chemiker-Zeitung. Bd. 62. 1938. S. 660.)

Der unitarischen Proteintheorie der Fermente steht die dualistische Auffassung der sog. „Träger"-Theorie gegenüber. Einige Biokatalysatoren des Oxydationsstoffwechsels, nämlich Atmungsferment, Cytochrome, Katalase und Peroxydase sind Chromoproteide, in denen eisenhaltige Pyrrolfarbstoffe als prosthetische Gruppen mit dem kolloiden Trägereiweiß verbunden sind. Mehrere Cofermente enthalten Vitamine und sind vielleicht die Wirkungsformen der Vitamine. Flavinenzym, das gelbe Ferment, wurde aus der synthetisch darstellbaren Laktoflavin-Phosphorsäure (Vitamin B_2-Phosphorsäure) und dem aus Hefe gewonnenen Trägereiweiß künstlich aufgebaut. Die Wirkung dieses Enzyms als Dehydrierungskatalysator in der Zelle ist genau bekannt: sie besteht in der Aufnahme von zwei Wasserstoffdonatoren und Wiedergabe an geeignete Wasserstoffakzeptoren. *Heuß (Berlin).*

Abderhalden, Charakterisierung von Eiweißstoffen mittels der Abwehrfermente. (Chemiker-Zeitung. Bd. 62. 1938. S. 671.)

Das Einbringen nicht bluteigener Eiweißstoffe, gleichgültig, ob sie von außen zugeführt werden oder innerhalb des Organismus aus Organen, Mikroorganismen, Parasiten entstehen, führt zur Bildung von Fermenten, die die fremdartigen Eiweißstoffe abbauen und so ihre Fremdartigkeit aufheben. Diese Abwehrfermentreaktion ist außerordentlich spezifisch. Mit ihrer Hilfe können auch Mikroorganismen differenziert werden. *Heuß (Berlin).*

Lenk, E., Quantitative Bestimmung der Diastasen. (Die Brau- u. Malzindustrie. Bd. 31. 1938. S. 75—81.)

Verf. legt seiner Schnellbestimmung tierischer und pflanzlicher Diastasen nicht die Gesamtmaltosebildung aus Stärke, sondern nur den ersten, sicher noch monomolekular verlaufenden Teil des Stärkeabbaus, die Verflüssigungsphase, zugrunde, bei dem die blaue Jodfarbe eben in blauviolett übergeht. Durch Einführung eines Stärkefaktors ist es nicht nur möglich, mit fast allen Stärkesorten die Bestimmung durchzuführen, sondern auch die Ergebnisse verschiedener Versuchsansteller untereinander zu vergleichen.

Heuß (Berlin).

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Schönberg, F., Über die wissenschaftlichen Grundlagen zu der Frischhaltung der Seefische. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 133—142.)

Verf. behandelt im Rahmen eines Vortrages die Frage der autolytischen und bakteriellen Zersetzung der Seefische, der Totenstarre, der p_H-Änderungen der Fischmuskulatur und vergleicht die einfache Kaltlagerung auf Eis mit der Gaskaltlagerung unter Verwendung von CO_2 als Schutzgas. Die größte Rolle beim Verderben der Seefische spielen kryophile Fluoreszenten und Flavobakterien. Die autolytische Zersetzung soll bei Magerfischen praktisch keine Rolle spielen, da nach Versuchen des Verf.s steril entnommene Muskulatur bei $\pm 0^{0}$ C bis zu 40 Tagen haltbar ist. *W. Schwartz (Karlsruhe).*

Bartram, M. T., and **Black, L. A.**, The detection and significance of Escherichia-Aerobacter. III. Correlation of total bacterial count and presence of the coli-aerogenes group. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 20. 1937. p. 105—112.)

Die Coli-positiven Rohmilchproben hatten durchschnittlich einen Gesamtkeimgehalt, der rund 3mal höher war als derjenige der Coli-negativen Proben, wenn dieser auf Standardagar bestimmt worden war. Weniger als 10 Colikeime pro Kubikzentimeter wurden in 69,2% solcher Milchen gefunden, deren Gesamtkeimzahl unter 10 000 pro Kubikzentimeter lag. Was die pasteurisierten Milchproben betrifft, so waren diejenigen unter 1000 Gesamtkeimen frei von Coliorganismen, während jedoch hier die Gesamtkeimzahl derjenigen Proben, die Coli-positiv waren, 4,3mal höher war als derjenige der Coli-negativen Milchen. In 0,1 ccm-Portionen von Kindermilch konnten niemals Coli-aerogenes-Keime gefunden werden. — Bei Bestimmung der Gesamtkeimzahl auf Trypton-Glukose-Milchagar zeigte sich eine ausgezeichnete Korrelation des Gesamtkeimgehalts mit dem Colititer, indem 93,5% aller Milchproben mit einer Gesamtkeimzahl unter 10 000 auch Coli-negativ waren. Die durchschnittliche Gesamtkeimzahl der Coli-positiven Proben wies in diesem Falle einen 12mal höheren Betrag auf als diejenige der Coli-negativen Proben. — Bei Rohmilch hohen Keimgehalts hat der Coli-aerogenes-Gehalt jedenfalls keine wesentliche Bedeutung, bei Milch geringen Keimgehalts (Vorzugsmilch) sollten aber im allgemeinen nur in den 1,0-ccm-Portionen Coli-aerogenes-Keime nachgewiesen werden können, niemals dürften aber mehr als 100 Keime pro Kubikzentimeter vorkommen. — Das Vorhandensein von Colikeimen in 1-ccm-Portionen pasteurisierter Milch ist ein Beweis für Reinfektion, die durch die gleichzeitig durchgeführte Bestimmung des allgemeinen Keim-

gehalts nicht ans Licht gebracht wird. Aus diesem Grunde ist die Coli-aerogenes-Probe für die Kontrolle der pasteurisierten Milch außerordentlich wertvoll. Was die Vorzugsmilch betrifft, so sind die bis jetzt bestehenden Vorschriften für Coli-aerogenes-Gehalt sehr maßvoll.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Schwarz, G., Fischer, O., Lembke, A. und Jensen, H., Beiträge zur Frage der Käseblähung. I. Mitt. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 399—412.)

Die Käseblähung wird durch Gasbildung (CO_2, H_2) von Coli- und Aerogenes-Bakterien hervorgerufen; bekannt ist, daß sie durch Zusatz von Nitraten zu verhindern ist. In der Annahme, daß dies darauf beruht, daß das Nitrat in Nitrit reduziert wird und der Sauerstoff den gebildeten Wasserstoff bindet, wurden andere reduzierende Substanzen, Methylenblau, Metol und Hydrochinon, zugesetzt, die aber keinen oder entgegengesetzten Erfolg hatten. Stoffwechseluntersuchungen an 9 Coli- und Aerogenes-Stämmen in synthetischen Nährlösungen bei saurer Reaktion und unter praktisch anaeroben Bedingungen zeigten, daß das Verhältnis H_2 zu CO_2 stark zugunsten des CO_2 verschoben war, was so zu erklären sein dürfte, daß der gebildete Wasserstoff bei der Milchsäurebildung aus Milchzucker wieder verbraucht wird. Einzelne Aminosäuren und besonders Aminosäurengemische (hydrolysiertes Kasein, Pepton) regen den Stoffwechsel beider Bakterien-Arten stark an (erhöhter Milchzuckerverbrauch, verstärkte H_2-Bildung). Laktoflavin hemmt die H_2-Bildung der Coli-Bakterien und fördert sie bei Aerogenes-Bakterien. Der Einfluß der Hüllensubstanz der Milch-Fettkügelchen beruht hauptsächlich auf der eiweißartigen Trägersubstanz und erst in zweiter Linie auf dem Enzym. *Reyer (Karlsruhe).*

Cruess, W. V., Die jüngsten Fortschritte wissenschaftlicher und technischer Art in der Obst- und Gemüsekonservenindustrie Amerikas. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 599.)

Von Mitgliedern der Forschungsabteilung der nationalen Konservenfabrikanten wurde ein hitzebeständiger Bazillus gefunden, der das Verderben von Tomatensaft verursacht, und ein anderer, der große Verluste bei Büchsentomaten hervorruft. Für Gemüsesaftdauerwaren ist die Säuerung bis zu einem p_H von 3,8—4,2 empfehlenswert. Zur Bekämpfung von Insekten auf Trockenfrüchten wurden Methylbromid und andere nicht explosive Desinfektionsmittel eingeführt. Ferner wurden zwei neue schädliche Bakterienarten des Weines gefunden. *Heuß (Berlin).*

Charley, V. L. S., Obstgetränke. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 599.)

Die Obstsaftindustrie hat in den letzten 10 Jahren einen außerordentlichen Aufschwung zu verzeichnen. Die Verfahren zur Haltbarmachung von Obstsaft kann man in 4 Gruppen einteilen: 1. Verfahren, die lediglich die Entfernung der Mikroorganismen vorsehen; 2. Verfahren, die eine Abtötung der Organismen bezwecken; 3. Verfahren, die darauf beruhen, daß unter gewissen Verhältnissen der Mikroflora des Fruchtsaftes zeitweilig keine Wachstumsmöglichkeit geboten wird (durch hohen CO_2-Gehalt, starke Eindickung, hohen Zuckergehalt, Entziehung der notwendigen Nährstoffe); 4. Verfahren, die auf der Vergiftung der Mikroorganismen durch Zusatz chemischer Konservierungsmittel beruhen. *Heuß (Berlin).*

Schwarz, R., Versuche über den Einfluß der Fermentierung von Obstmaischen auf Saftbeschaffenheit und Saftausbeute. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 433—435.)

Um die Obstsäfte dünnflüssiger und leichter filtrierbar zu machen, setzt man ihnen neuerdings ein Ferment zu, wie Filtragol oder Pektinal. Man hat nun auch die Ansicht vertreten, daß durch Zusatz solcher Fermente zu der Maische eine Erhöhung der Saftausbeute und ein leichteres Auspressen der Maische möglich sei. Verf. konnte aber durch eingehende Versuche mit Maischen von Johannisbeeren, Himbeeren, Brombeeren, Tomaten und Äpfeln zeigen, daß man die Maischen gleich gut auspressen kann und auch die gleichen Saftausbeuten erzielt, gleichgültig, ob die Maische einen Fermentzusatz erhalten hat oder nicht. Wenn man Süßmoste herstellen will, ist der Fermentzusatz sogar von Nachteil, weil in der Zeit, in welcher die Maische stehenbleiben muß, um eine Fermentwirkung hervorzurufen, die in der Maische vorhandenen Mikroorganismen sich schon vermehren, wodurch die Entkeimung des Mostes erschwert wird. *K. Müller (Freiburg i. Br.).*

Percher, G., Les levures froides. (Revue de Viticulture. Vol. 89. 1938. p. 219—222.)

Bei Untersuchungen von Kaltgärhefen, verglichen mit Normalhefen, konnte Verf. bestätigen, daß noch bei Temperaturen unter 0° C solche Kaltgärhefen den Wein langsam vergären. Die so erhaltenen Weine besitzen eine normale Beschaffenheit, sowohl hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung, wie auch in geschmacklicher Hinsicht. Mit Kaltgärhefe vergorene Weine nehmen sogar im Geschmack die erste Stelle ein.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Petri, W., Über die Rotschönung des Weines. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 318—327.)

Bekanntlich sind von den einzelnen Regierungen mehr oder weniger starke Einschränkungen über die Verwendung der arsenhaltigen Schädlingsbekämpfungsmittel, vor allem im Weinbau, erlassen worden, weil sich gezeigt hat, daß mit einer Verbesserung der Haftfähigkeit solcher Mittel, zwecks stärkerer Wirkung gegen die Schädlinge, auch die Möglichkeit besteht, daß Arsen in gesundheitsgefährdenden Mengen in den Most oder Wein gelangen kann. Bei unsachgemäßer Brüheherstellung, oder unrichtiger Verwendung, ist das besonders leicht möglich. Seit einiger Zeit ist es nun aber geglückt, etwa im Wein enthaltenes Arsen mittels Eisenoxyd (Prestal) aus dem Wein zu entfernen. Praktische Versuche haben gezeigt, daß das möglich ist, ohne den Wein nachteilig zu beeinflussen. Die Absorption geht sehr rasch vor sich, zumal, wenn man durch Einleiten von Kohlensäure das Eisenoxyd im Wein 5 Min. lang aufwirbelt. Nachher wird der Eisenoxydniederschlag, der das Arsen nahezu restlos aufgenommen hat, abfiltriert. Der Wein ist dann entarseniert, ohne sich irgendwie qualitativ verändert zu haben.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Schmid, M., Fettgewinnung aus Mikroorganismen. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 150—165.)

Kaufmann, H. P. und **Schmid, O.**, Über die Zusammensetzung des Fettes von Oidium lactis (Oospora lactis). (Ebenda. Bd. 1. 1938. S. 166—169.)

M. Schmid berichtet in einem Vortrag in der Hauptsache über die

Versuche zur Fettgewinnung aus Oidium lactis, die im Institut für Gärungsgewerbe unter Leitung von Fink ausgeführt werden. Die Züchtung der aus einem Ausgangsmaterial von etwa 50 Stämmen nach Schnellwüchsigkeit und hohen Fetterträgen ausgelesenen zwei Fettbildner erfolgte zunächst auf Molken, dann unter allmählicher Gewöhnung auch auf Molken mit Zusätzen von Bergius-Zucker oder (weniger günstig) Scholler-Zucker und Sulfitablauge. Unter günstigsten Bedingungen (Temperatur, Kohlenstoff-Stickstoffverhältnis, Art der Kulturgefäße) steigt der Fettgehalt der Trockensubstanz bis zu 30—40% bei einem Eiweißgehalt von 15—30%, wobei etwa 30% des verbrauchten Zuckers veratmet werden. Die Vorteile gegenüber Endomyces vernalis scheinen vor allem in der besseren Auswertung der gebotenen Zucker, der hohen Widerstandsfähigkeit gegenüber Infektionen und den etwas höheren Ausbeuten zu liegen. Leider ist auch bei Oidium die technische Fettgewinnung an eine Kultur bei großen Oberflächen gebunden.

Das Fett eines der beiden von M. Schmid benutzten Stämme (Stamm A) wurde von H. P. Kaufmann und O. Schmid auf seine Zusammensetzung geprüft. Das gelbliche Fett entspricht in seiner Konsistenz etwa der Vaseline und enthält 42,8% gesättigte Säuren, 41,2% Ölsäure, 11,8% Linolsäure, 0,12% Linolensäure und 3,7% Oxysäuren.

W. Schwartz (Karlsruhe).

Koch, R. und **Weißmann, R.,** Untersuchungen über die Einsäuerung von Biertrebern. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 209—212.)

Die Konservierung der Biertreber, soweit sie nicht in frischem Zustand verkauft werden können, liegt im volkswirtschaftlichen Interesse. Als eiweißreiche Futtermittel zeichnen sie sich durch hohe Alkalität aus, sind schwer silierbar und benötigen zur Frischhaltung verhältnismäßig viel Säure, damit die zur Unterdrückung der Buttersäuregärung notwendige Wasserstoffionenkonzentration erreicht wird. Zur Klärung der Frage, ob eine Silierung der Biertreber möglich ist, wurden im Laboratorium Versuche mit Naßtrebern unter Zusatz von Zucker oder Milchsäurebakterien bzw. Zucker und Milchsäurebakterien durchgeführt. Naßtreber allein zeigten trotz Luftabschluß Buttersäuregärung, die besten Säuretreber erhielt man bei Zusatz von Zucker und Beimpfung mit einer Kultur bewährter Kaltmilchsäurebakterien. Man erhielt in diesem Fall einen ausreichenden Gehalt an Milchsäure bei geringem Gehalt an Essigsäure und Abwesenheit von Buttersäure. Daraus ist zu schließen, daß nur durch Zugabe von Zucker und Beimpfung mit Milchsäurebakterien die Voraussetzungen für das Gelingen einer einwandfreien Trebersilage gegeben sind.

Auch mit Salzsäure wurden Versuche durchgeführt, um deren Eignung zur Einsäuerung von Trebern zu prüfen. Die Versuche verliefen negativ. Ein Sauerfutter von befriedigender Zusammensetzung konnte erst bei Zusatz solcher Säuremengen erzielt werden, die tierphysiologisch nicht mehr unbedenklich sind. *Heuß (Berlin).*

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Krjutschkowa, A. P., Die Entwicklung der mikrobiologischen Diagnostik der Böden und ihre Aufgaben. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 4. 1938. S. 411—426.) [Russisch.]

Die sog. „Methode der Bodenplättchen" zur Untersuchung des Bodens

auf seinen P_2O_5-, K_2O- und CaO-Gehalt mit Hilfe von Azotobacter erwies sich vorteilhafter als die von Christensen und Niklas. Bei der Mannigfaltigkeit der russischen Bodentypen mußte jedoch die erstgenannte Methode manchen Änderungen unterzogen werden, und zur Zeit wird sie in der modifizierten Form zu Bodenuntersuchungen in folgenden Richtungen benutzt: 1. zur Bestimmung des Düngerbedürfnisses des Bodens in bezug auf P_2O_5, K_2O und CaO; 2. zur Bestimmung der Düngernachwirkung; 3. zur Bestimmung des Podsolierungsgrades der Böden; 4. zur mikrobiologischen Bewertung des Bodens; 5. zur Bewertung der Aufnahmefähigkeit der Nährstoffe aus verschiedenen Düngern; 6. zum Studium der Düngerverteilung im Boden bei verschiedener Art ihrer Einbringung. Die Methodik mit Aspergillus wird zur Bestimmung des Düngerbedürfnisses des Bodens in bezug auf N, P_2O_5 und K_2O benutzt. Die Vervollständigung dieser Methodik geht in Rußland in zwei Richtungen vor sich: Aussuchen von wenig säuernden Aspergillus-Arten und Ausarbeitung von geeigneten Sterilisationsmethoden des Bodens. Die besten Resultate erzielt man mit Aspergillus oryzae. Zu Stickstoffbestimmungen im Boden wird auch die Alge Scenedesmus (Sc. quadricauda) benutzt.

M. Gordienko (Berlin).

Jelkina, O. G., Die Dynamik der mikrobiologischen Prozesse im Boden der Reisfelder. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 4. 1938. S. 485—497.) [Russisch.]

Im Boden der Reisfelder verlaufen die mikrobiologischen Prozesse während der Vegetationsperiode sehr stürmisch, indem die Oxydation mit Reduktion wechselt. Nach der Überschwemmung im Frühjahr überwiegen die Reduktionsprozesse, die hauptsächlich durch die denitrifizierenden und desulfurierenden Bakterien hervorgerufen werden; nach weiteren Monaten setzt allmählich die Tätigkeit der Nitrifikatoren ein. Azotobåcter kommt in dem Boden der Reisfelder in größeren Mengen vor als in dem der Weizenfelder. *M. Gordienko (Berlin).*

Kaniwetz, I. I., Über die Rolle des Pilzes Trichoderma lignorum für die Erhöhung der Bodenfruchtbarkeit und Steigerung der Erträge von Zuckerrüben, Weizen und Hafer. (Der Zucker. Nr. 2. 1938. S. 29—32.) [Russ.]

Die Arbeit schildert die Ergebnisse der dreijährigen Versuche über die Wirkung des Pilzes Trichoderma lignorum auf die Bildung der festen Struktur des Bodens (I), auf die Verbesserung seiner Nährstoffverhältnisse (II) und auf die Erhöhung der Winterweizen-, Hafer- und Zuckerrübenerträge (III). Es wurde festgestellt: Betreffs I: Das Ferment von Tr. lignorum erwies sich als starker Strukturbildner im Boden; es hat schon in kurzer Zeit (58 Tage) eine wesentliche Verbesserung der Bodenstruktur bewirkt. Doch spielt dabei das Alter des Pilzes eine bedeutende Rolle: die größte Wirkung zeigte nämlich das am 4. Tage des Pilzwachstums gewonnene Ferment. — Betreffs II: Der mit dem Pilz geimpfte Boden wies größere Nitrat- und geringere Ammoniakmengen auf als der nicht-geimpfte. — Betreffs III: Der Zuckerrübenertrag stellte sich auf den Parzellen mit geimpftem Boden auf 479 dz/ha gegen 407 dz/ha auf den nicht-geimpften Parzellen; auch beim Weizen und Hafer bewirkte die Impfung mit dem Pilz eine bedeutende Ertragssteigerung. *M. Gordienko (Berlin).*

Jäger, G., Über die Reinigungswirkung von Protozoenreinkulturen in häuslichem Abwasser. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 120. 1938. S. 620—625.)

In Übereinstimmung mit Untersuchungen von Viehl hat sich ergeben, daß die Ausflockung der Kolloide bei der Selbstreinigung des Wassers durch die Gegenwart von Protozoen beschleunigt wird. Bakterien haben auf die Reinigungsgeschwindigkeit keinen wesentlich fördernden Einfluß, da sie keine ungelösten Bestandteile aufnehmen können. Es wurden 4 Protozoenarten geprüft, von denen Paramaecium caudatum die stärkste Wirkung entfaltete. Dann folgten Euplotes charon, Vorticella alba und mit dem schwächsten Effekt kleine farblose Flagellaten. Als Ursachen der verschieden starken Reinigungswirkung der Protozoen werden angeführt die Art der Nahrungsaufnahme und die verschiedene Empfindlichkeit gegen Schmutzstoffe. Manche Arten kommen erst in mehr oder weniger stark vorgereinigtem Wasser zu stärkerer Entwicklung und Wirkung.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Stellwaag, F., Möglichkeiten und Versuche, im Gartenbau giftige Pflanzenschutzmittel durch ungiftige zu ersetzen. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 597.)

Die wichtigsten Schädlingsbekämpfungsmittel im Obst-, Wein- und Gemüsebau enthalten Arsen und sind dadurch gefährlich. Andere Darmgifte: Thallium, Strychnin, Zinkphosphid treten dem Verbrauch nach gegenüber Arsen stark zurück. Neben Darmgiften werden auch sog. Berührungsgifte verwendet, wie Nikotin, Zyanogas, Sublimat. Auf einigen Gebieten ist der Ersatz von Arsen gelungen. So kann die Spritzung der Obstbäume mit Ölemulsionen (Obstbaumkarbolineum) eine Abtötung der Eiräupchen von Hyponomeuta malinella herbeiführen und eine Vorblütespritzung überflüssig machen. Auch die Bekämpfung der Pflaumensägewespe kann ohne Arsen durchgeführt werden. Gegen Heuschrecken sind Arsenköder weniger giftiger Zusammensetzung und gegen die Citrusfliege sowie gegen Bodenschädlinge Fluorköder brauchbar, die gleichzeitig als Ersatz für Zinkphosphid gelten. Als ungefährliche Berührungsgifte sind Pflanzenschutzmittel bekannt, deren wirksame Bestandteile Pyrethrum oder Derris (Rotenon) darstellen. Sie sind jedoch wenig haltbar, haben eine geringere Reichweite als Nikotin und sind in der Regel auch teurer. Die Blausäure kann — allerdings nur unvollkommen — durch Spritzung der leeren Gewächshäuser mit Ölemulsionen oder durch schwefelhaltige Stoffe ersetzt werden. Die Prüfung der Giftstoffe einiger Wildpflanzen auf ihre Eignung als Schädlingsbekämpfungsmittel ergab bisher keine große Ausbeute.

Heuß (Berlin).

Métalnikoff, S., Utilisation des microbes dans la lutte contre les insectes nuisibles. (Revue de Viticulture. Vol. 89. 1938. p. 243—247.)

Die schädlichen Insekten richten alljährlich Schäden an, die in die Hunderte von Millionen Franken gehen. Die zu ihrer Bekämpfung angewandten üblichen Giftmittel können auch für Tiere und Menschen gefährlich sein. In vielen Fällen kann man mit solchen Mitteln den von den Insekten abgelegten Eiern nicht beikommen, weil sie sich im Innern der befallenen Organe befinden. Man kann aber die jungen Larven in manchen Fällen leicht mit Mikroorganismen infizieren. Diese Methode muß bessere Ergebnisse zeitigen als jene mit Giftmitteln. In Frage kommen als Mikroorganismen: Pilze, parasitäre Insekten und Bakterien. Für eine günstige Pilzentwicklung ist

eine bestimmte Temperatur und Feuchtigkeit notwendig, die besonders im Sommer oft fehlt. Ebenso ist eine künstliche Infektion mit parasitären Insekten von vielen Zufälligkeiten abhängig. Die besten und sichersten Ergebnisse scheinen Bakterien zu liefern. Aber auch Bakterien zeigen oft keine Erfolge, zumal wenn es sich um solche handelt, die keine Sporen bilden und deshalb unter Witterungseinflüssen rasch zugrunde gehen. Verf. glückte es, sporenbildende, pathogene Bakterien aus toten Insekten zu züchten, die ihre Virulenz unter verschiedenen klimatischen Bedingungen mehrere Jahre behalten. Zu Pulver getrocknete derartige Kulturen lassen sich mit Wasser angerührt mit den üblichen Spritzapparaten leicht verstäuben. Seit 1928 laufen Versuche gegen den Maiszünsler. Bei 100 Maispflanzen, die mit Sporenpulver bespritzt worden waren, zeigten sich nur 14% befallene und in der Kontrolle 91% befallene Pflanzen. Diese Erfolge werden aus verschiedenen Ländern bestätigt. Ähnliche Ergebnisse wurden bei Baumwollraupen erzielt. Auch gegen den Springwurm und die beiden Traubenwickler am Weinstock wurden gleich erfolgreiche Versuche in 5 Weinbaugebieten angestellt. 10 unbehandelte Reben zeigten 2244 Springwurm-Räupchen, 10 behandelte aber nur 262, was einer Abtötung von 91% entspricht. Die 10 behandelten Reben brachten 5100 g, die 10 unbehandelten nur 1781 g Trauben. In anderen Versuchen war die Abtötungszahl 89 und 92%. Beim Traubenwicklerversuch wiesen 100 Trauben behandelt 10 befallene Trauben und 28 befallene Beeren auf, 100 unbehandelte Trauben dagegen 68 befallene Trauben mit 1014 befallenen Beeren. Zwei gleich große Felder ergaben beh. 5 hl Wein, unbehandelt dagegen nur 50 l. Verf. hofft, daß mit fortgeschrittener Technik der Bakterienzüchtung, in der Schädlingsbekämpfung ein Umschwung eintreten wird.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Marsais, P., Usage et avenir des Poudrages en viticulture. (Revue de viticulture. Vol. 89. 1938. p. 73.)

Nach Ansicht des Verf.s sind die pulverförmigen Bekämpfungsmittel im Weinbau Frankreichs z. Z. in Ausbreitung begriffen. Sie haben manche Vorzüge, vor allem fallen die teueren Fuhrkosten für Spritzbrühe fort und die Stäubemittel schützten die Trauben im Stockinnern besser, weil sie leichter zwischen den Blättern eindringen. Die Industrie habe die Stäubemittel nun auch haftfähiger gestaltet. Auch Mittel wie Rotenon, Pyrethrum usw. würden heute als Stäubemittel geliefert. Arsenstäubemittel erwähnt Verf. nicht, es ist ja auch bekannt, daß diese besonders gesundheitsgefährlich werden können.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Bockmann, H., Ursachen und Verhütungsmöglichkeiten der Getreidefußkrankheiten. (Dtsch. Landw. Presse. Jg. 65. 1938. S. 487—488.)

Getreidefußkrankheiten treten als Halmbruch (Erreger Cercosporella hypotrichus) und als Schwarzbeinigkeit (Erreger Ophiobolus graminis) in Erscheinung. Bei der Schwarzbeinigkeit zeigt sich Notreife, während diese bei der Halmbruchkrankheit selten ist. Dafür ist hier das Lagern eine Begleiterscheinung. Auf guten Böden überwiegt die Halmbruchkrankheit, auf schlechteren die Schwarzbeinigkeit. Sommerhalmfrüchte sind weniger als die Winterhalmfrüchte gefährdet. Bei der Halmbruchkrankheit war die späte Aussaat weniger als die frühe befallen. Milde regenreiche Winter begünstigen die Krankheit. Tief bzw. dicht gesäte Be-

stände erkranken durchweg stärker als flach bzw. dünn gesäte. Die Verhältnisse bei der Schwarzbeinigkeit sind noch nicht soweit geklärt. Das ist dadurch bedingt, daß der Erreger im Boden lebt und seine Lebensvorgänge wesentlich verwickelter sind. Die Aussaatzeit und die Bestandsdichte scheinen sich im gleichen Sinne wie bei der Halmbruchkrankheit auszuwirken. Zur Verhütung von Fußkrankheiten ist die Fruchtfolge wesentlich. Halmfrüchte dürfen nicht zu oft in der Fruchtfolge erscheinen. Stickstoffdüngung fördert vor allem die Halmbruchkrankheit. Widerstandsfähige Sorten wurden bis jetzt nicht gefunden. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Vaheeduddin, S., The production of a new physiologic race of Sphacelotheca sorghi. (Phytopath. Vol. 28. 1938. p. 656—659; 1 fig.)

Verf. glaubte, durch Kreuzen von Einsporlinien von Sphacelotheca sorghi eine physiologische Rasse gefunden zu haben, die sich von den bisher beschriebenen unterscheidet. Wenn auch die neue Rasse in der Natur bisher nicht festgestellt wurde, so ist Verf. doch der Ansicht, daß durch diese Feststellung eine Erklärung für das Entstehen neuer Rassen gegeben ist. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Smith, A. L., Hoppe, P. E., and **Holbert, J. R.**, Development of a differential inoculation technique for Diplodia stalk rot of corn. (Phytopath. Vol. 28. 1938. p. 497—504; 4 figs.)

Verff. beschreiben eine Methode zur künstlichen Infektion von Mais mit Diplodia zeae. Die Methode wurde an 13 Kreuzungen von Pferdezahnmais erprobt. Auf Grund von Vergleichen mit natürlichen Infektionen glauben Verff., daß die Prüfung von Mais auf Resistenz gegen Diplodia mit der beschriebenen Methode möglich ist.

Winkelmann (Münster i. W.).

Elisei, F. G., Primo reperto in Italia del Fusarium moniliforme Sheld. parassita del riso (Oryza sativa L.). [Erstes Auffinden von Fusarium moniliforme Sheld ein Parasit des Reises in Italien.] (Atti Ist. Bot. Univ. Pavia. Bd. 11. 1938.)

Auf Reispflanzen aus Novara (Piemonte) wurde, zum ersten Male in Italien, F. moniliforme Sheld. gefunden. Von der Pflanze werden Stengel und Blätter befallen, während die Wurzeln gesund bleiben. Der Pilz ist mit Mikrokonidien in Ketten und in falschen Köpfchen versehen.

Pesante (Rom).

Fischer, G. W., Some new grass smut records from the Pacific Northwest. (Mycologia. Vol. 30. 1938. p. 385—395.)

Es wird über das Vorkommen und den Wirtspflanzenkreis einiger Brandarten im Nordwesten Amerikas berichtet. Dabei finden die Ustilago-Spezies: U. hypodytes, U. bullata, U. hordei, U. tritici und U. striaeformis Erwähnung. Außerdem werden die Diagnosen der neuen Spezies Ustilago Sitanii sp. nov. (Sporen lichtbraun, 3,5—5 × 3,5—7 μ) und Tilletia pallida sp. nov. (Sporen gelblichbraun, 16—24 μ im Durchmesser) angegeben. Die erste der genannten Arten wurde 1937 auf Sitanium jubatum und S. Hanseni, die zweite 1929—1935 und 1937 auf Agrostis palustris gefunden.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Greathouse, G. A., Suggested rôle of alkaloids in plants resistant to Phymatotrichum omnivorum. (Phytopath. Vol. 28. 1938. p. 592—593.)

Verf. stellte fest, daß bei verschiedenen Pflanzen ein Zusammenhang zwischen Alkaloidgehalt und Anfälligkeit gegen Phymatotrichum omnivorum besteht, und zwar ist die Resistenz um so größer, je höher der Alkaloidgehalt ist. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Andrus, C. F., Seed transmission of Macrophomina phaseoli. (Phytopath. Vol. 28. 1938. p. 620—634; 5 figs.)

Die Möglichkeit der Übertragung von Macrophomina phaseoli durch den Samen wurde an der „Henderson Bush Lima"-Bohne in Georgia nachgewiesen. 85% der nicht-sterilisierten Samen und 57% der oberflächlich sterilisierten waren befallen. Das zeigt an, daß der Pilz sich teilweise unter der Samenschale befindet. Die Zahl der befallenen jungen Pflanzen steht im umgekehrten Verhältnis zum Prozentsatz der gekeimten Pflanzen. Faktoren, die die Keimung beeinflussen, bestimmen auch das Ausmaß des Primärbefalles. Für die Sekundärinfektion der Blätter ist hohe Luftfeuchtigkeit von besonderer Bedeutung.

Winkelmann (Münster i. W.).

Kreutzer, W. A., and Durrell, L. W., Rot of mature tap root of sugar beet caused by Pythium butleri. (Phytopath. Vol. 28. 1938. p. 512—515; 1 figs.)

Im Jahre 1936 wurde auf einem Zuckerrübenfeld eine Krankheit beobachtet, die sich zunächst in einem Welken und Gelbfärben der unteren Blätter äußert. Bei näherer Untersuchung wurden auch Verfärbungen an den Wurzeln festgestellt. Als Erreger wurde Pythium butleri ermittelt.

Winkelmann (Münster i. W.).

Hampp, H., Prüfung der Peronospora-Bekämpfungsmittel auf dem Hopfenversuchsgut Hüll 1937. (Nachrichtenbl. f. d. dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 18. 1938. S. 30—31.)

Die Prüfung der Peronospora-Bekämpfungsmittel an Hopfen erstreckte sich neben Kupferkalk Wacker auf zwei weitere Kupferkalkpräparate und noch auf vier kupferfreie Mittel. Von den kupferhaltigen Mitteln war Kupferkalk Wacker das beste. Die kupferfreien Mittel hatten zwar zunächst eine gute, pilztötende Wirkung. Diese Wirkung ließ aber bald nach, weil die Wetterbeständigkeit nicht genügte. Die Einzelheiten der Versuche sind aus drei Übersichten zu entnehmen. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Moreau, L., et Vinet, E., La pression osmotique de la sève et les symptômes du Court-Noué chez la vigne. (Revue de Viticulture. Vol. 89. 1938. p. 191—198.)

Verschiedene Krankheitserscheinungen der Rebe werden in Frankreich unter der Bezeichnung Court-Noué zusammengefaßt. Sie gehen auf ganz verschiedene Ursachen zurück, teils auf physiologische, teils auf parasitäre Krankheiten, zeigen aber immer das gleiche Krankheitsbild, wie Kleinblättrigkeit, besenförmigen Wuchs, kurzknotige Triebe und Ertraglosigkeit. Nach Verf. tränen die erkrankten Stöcke viel weniger als gesunde. Die Menge des Tränenwassers beträgt bei kranken Stöcken nur 5—60% (gesunde 100%), was auf eine Verminderung des osmotischen Drucks in den kranken Reben zurückgeführt wird. Die verminderte Saftzirkulation bedingt eine Unter-

ernährung des Vegetationskegels, wodurch die Internodien kurz und die Augen unfruchtbar bleiben. Von diesem Gesichtspunkt aus gesehen, halten die Verff. für die Bekämpfung der Krankheit eine Steigerung des Saftstromes für angeraten, die durch späten und langen Rebschnitt in gewissem Maße möglich ist. Möglicherweise ließen sich auch durch Pflanzenhormone das Wurzelwerk und die Rebtriebe im Wachstum günstig beeinflussen.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Percher, G., Quelques essais sur les Soufres et sur les Mouillants. (Rev. de Viticult. T. 45. 1938. p. 295—300.)

Im Jahre 1937 wurden Versuche angestellt, um die Wirkungsweise verschiedener Schwefelpräparate gegen den Mehltau der Reben zu ergründen. Verwendet wurde Schwefelblüte der Brühe beigesetzt, Schwefelblüte verstäubt und kolloidaler Schwefel des Handels. Bei gleich häufiger Anwendung aller Präparate in den Parzellen erwies sich der verstäubte Schwefel zweifellos als der wirksamste. Schwefel der Kupferkalkbrühe beigemischt, zeigte auch noch eine gewisse Wirkung, dagegen sicherte der untersuchte kolloidale Schwefel den Weinberg vor Mehltaubefall nicht, war also unbrauchbar. Weitere Versuche galten der Prüfung der Schleimigkeit und Haftfähigkeit der Brühen nach Zusatz gewisser Handelspräparate. Drei untersuchte Präparate ergaben eine wechselnde Schleimigkeit je nach der zugesetzten Menge. Die Haftfähigkeit war umgekehrt proportional der Schleimigkeit.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Goldsworthy, M. C., and Smith, M. A., The comparative importance of leaves and twigs as overwintering infection sources of the pear leaf-blight pathogen Fabraea maculata. (Phytopath. Vol. 28. 1938. p. 574—582.)

Verff. fanden Konidien von Fabraea maculata im Winter auf abgefallenen Blättern, aber nicht auf Früchten von Birnen. Gelegentlich wurden Konidien an verletzten Stellen der Borke festgestellt. Nach den von Verff. ausgeführten Versuchen haben die überwinterten Konidien für die Infektion im Frühjahr keine große Bedeutung. In der Hauptsache überwintert der Pilz in Maryland und Missouri in der Borke als Myzel, aus dem im Frühjahr die Konidien entwickelt werden. Die Verbreitung der Konidien im Frühjahr erstreckt sich über mehrere Monate.

Winkelmann (Münster i. W.).

Wollenweber, H. W. und Röder, K., Das Verhalten einer Pfropfulme (Ulmus pumila) gegen Graphium ulmi. (Nachrichtenbl. f. d. dtsch. Pflanzenschutzdienst. Jahrg. 18. 1938. S. 31—32; 1 Abb.)

Um einen Teil des Ulmenbestandes zu erhalten, wurde Ulmus pumila, die sich als widerstandsfähig gegen Graphium ulmi gezeigt hatte, auf heimische Ulmen gepfropft. Die Kronenbildung war nicht sehr gut, außerdem wurde die „Edelkrone“ von Graphium befallen.

Winkelmann (Münster i. W.).

Groves, J. W., Dermatea acerina and Pezicula acericola. (Mycologia. Vol. 30. 1938. p. 416—430.)

Zwei Parasiten des Ahorns, Dermatae acerina und Pezicula acericola, wurden mit ihren Nebenfruchtformen kritisch untersucht. D. acerina, mit dem einige andere Spezies identisch sind, hat dunkle Apothezien und 1—4 zellige länglich elliptische Askosporen (13—20 $\times$ 5—8 μ). Konidienform ist Sphaeronema acerinum mit 15—25

× 5—8 μ großen Konidien und 6—10 × 1—2 μ großen Mikrokonidien. Deutlich von Dermatea unterschieden ist Pezicula acericola mit gelben Apothezien. Die Askosporen sind größer als bei der vorigen Art (22,5—37,0 × 7,5—11,0 μ). Als Konidienform gilt eine wahrscheinlich unbeschriebene Art von Cryptosporiopsis mit 1- bis 4zelligen, leicht gebogenen Konidien (25—42 × 10—15 μ) und fadenförmigen Mikrokonidien (8—15 × 1,5—2,5 μ). *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Maier, W. und **Mittmann, G.**, Eine Fleckenkrankheit an Chrysanthemen. (Die kranke Pflanze. Bd. 15. 1938. S. 109—110.)

Als Ursache einer Fleckenbildung an Chrysanthemumblüten wurde Botrytis cinerea ermittelt. Obwohl es den Verff. nicht gelang, durch künstliche Infektionen mit diesem Pilz ähnliche Fleckenbildungen hervorzurufen, halten sie Botrytis doch für die primäre Krankheitsursache und nehmen sogar an, daß eine Infektion durch die unverletzte Epidermis möglich sei. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Störmer, Inge, Versuche zur Bekämpfung von Schorf und Rhizoctonia bei der Kartoffel durch quecksilberhaltige Dünge- und Beizmittel. (Nachr. über Schädlingsbek. Bd. 13. 1938. S. 45—55.)

Verf.n untersuchte die Frage der Bekämpfung von Kartoffelschorf (Actinomyces) und Rhizoctonia in Großversuchen in Pommern. Durch Kombination einer Bodenbehandlung (Zusatz von Sublimat zu Superphosphat) und einer Knollenbeizung ließen sich beide Krankheiten soweit zurückdrängen, daß das Erntegut den bestehenden Anforderungen für Pflanzkartoffeln entsprach. Das Sublimat wirkte um so besser, je näher es an die Stauden gebracht wurde, wobei sich saure Medien als günstiger erwiesen. Zur Knollenbeizung war ein Kurznaßbeizverfahren mit 1proz. Quecksilbermitteln (Sublimat, Aretan u. a.) geeignet. Aretan war für die Kartoffel am unschädlichsten. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Massalab, N. A., Eine neue Tomatenkrankheit in der Krim. (Obst- u. Gemüsebauwirtschaft. Heft 1. 1938. S. 37—38.) [Russisch.]

In der Krim wurde 1936 Bakterienkrebs der Tomaten erstmalig festgestellt. Von den befallenen Pflanzen und Früchten wurde Aplanobacter michiganense isoliert. Als wirksame Bekämpfungsmaßnahme kommt die Einführung zweckmäßiger Fruchtfolge in Frage, da Apl. michiganense nur die Tomaten befällt. *M. Gordienko (Berlin).*

Stapp, C., Die Schwarzbeinigkeit der Kartoffel. (Die kranke Pflanze. Bd. 15. 1938. S. 103—106.)

Es werden die verschiedenen Möglichkeiten dargelegt, durch die das Bacterium phytophthorum die Kartoffelstaude zu infizieren vermag: Entweder von der Mutterknolle oder nach Verletzung der Triebe vom Boden aus. In der Anfälligkeit der Sorten bestehen Unterschiede: Von 20 sehr stark anfälligen Sorten gehören 18 zu den Gelbfleischigen. Wenig anfällig sind Beseler, Rote Tiefgelbe, Konsum, Herbstgelbe und Hellena. Sehr widerstandsfähig dagegen sind nur die Sorten Alte Daber, Flava und Sickingen. Zur Bekämpfung der wirtschaftlich wichtigen Krankheit sind einige Abwehrmaßnahmen zu beachten, die Verf. in 10 Punkten zusammenstellt. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Folsom, D., Libby, W. C., and Wyman, O. L., Net necrosis of potatoes. (Maine Extension Service. Bull. 246. 1938. p. 1—12.)

Wenn Kartoffelstauden von Blattrollvirus befallen werden und das Virus in die gesunden Knollen eindringt, dann treten an dem Gefäßsystem derselben nekrotische Veränderungen auf, die wegen ihres charakteristischen Aussehens an Längsschnitten als Netznekrose bezeichnet werden. Die Verfärbungen, die manchmal mit ähnlichen, aber von anderen Ursachen herrührenden verwechselt werden können, breiten sich vom Nabelende in das Innere der Knolle aus. Aus solchen entstehen dann blattrollkranke Pflanzen, die aber nicht wieder Knollen mit Netznekrose erzeugen, weil das Virus nicht erstmals aus dem Sproß durch die Leitungsbahnen in die jungen Knollen eindringt, sondern sich schon bei deren Anlage darin befindet. Zur Bekämpfung der Krankheit wird empfohlen, die Pflanzkartoffeln von noch nicht blattrollkranken Beständen vor dem Auspflanzen zu zerschneiden und die verfärbten Knollen auszumerzen. Auf diese Weise würde ebenfalls die Blattrollkrankheit wirksam bekämpft werden, wenn auch nicht jede von Netznekrose freie Knolle gesund ist. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Tierische Schädlinge.

Lukasch, I. I., Über die Lebensdauer des Hanfflohes im Frühjahr ohne Nahrung. (Lein u. Hanf. Nr. 2. 1938. S. 29—31.) [Russisch.]

Die Lebensdauer des hungernden Hanfflohes war auf dem feuchten Boden etwa doppelt so lang wie auf dem lufttrockenen. Die meisten Hanfflöhe auf dem trockenen Boden starben schon am 2.—4. Versuchstage ab, auf dem feuchten Boden und im Schatten betrug aber die längste Lebensdauer bis zu 15 Tagen. Die Bekämpfung des Schädlings ist durchaus möglich durch eine sorgfältige Beseitigung aller ihm im frühen Frühling bis zur Entwicklung der Hanfpflanzen zur Nahrung dienenden Unkräuter, wie Urtica urens, Lappa tomentosa, Lamium purpurema, Humulus lupulus, Sonchus arvensis u. a.

M. Gordienko (Berlin).

Lukasch, I. I., Über einen neuen Schädling in der Landwirtschaft. (Lein u. Hanf. Nr. 3. 1938. S. 27—28.) [Russisch.]

Es werden die morphologischen und biologischen Eigenschaften der Larven von Schwebfliegen (Syrphiden) beschrieben, die den Hanf beim Rösten schädigen, indem sie diesen in eine unbrauchbare, wergartige Masse umwandeln. Zur Bekämpfung prüfte man 0,1proz. Formalin, Kalziumchlorid, Chlorpikrin und „Anabazin-Sulfat“. Die beiden letztgenannten Mittel ergaben gute Resultate, jedoch bleibt die Frage über ihre Wirkung auf den biologischen Prozeß beim Rösten noch ungeklärt. Auch scheint die Anwendung von Petroleum in Mengen von 0,5—1,0 l/1 qm Röstenraumfläche erfolgversprechend zu sein (durch die Petroleumschicht wird der Luftzutritt in den Röstenraum gesperrt, wodurch die Larven bald absterben).

M. Gordienko (Berlin).

Tattersfield, F., and Martin, J. T., The problem of the evaluation of Rotenone-Containing Plants. IV. The toxicity to Aphis rumicis of certain products isolated from Derris Root. With an Appendix by W. G. Cochran. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 411—429.)

Verf. gibt einen Bericht über die Zubereitung und über die Eigenschaften

von Verbindungen aus den Extrakten der Sumatra-Derris-Wurzel. Verschiedene Giftstoffe wurden an Aphis rumicis (Blattlaus) geprüft.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Ladell, W. R. S., Field experiments on the control of Wireworms. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 341—389.)

Die Drahtwurmpopulation wurde stets durch Entnahme von Bodenproben vor und nach der Behandlung bestimmt. Die Versuchsanordnung wird eingehend beschrieben.

Zwischen dem p_H-Wert des Bodens und der Dichte der Drahtwurmpopulationen wurde keine Beziehung festgestellt.

Die Sammelergebnisse können von bestimmten Faktoren beeinflußt werden und daher sehr ungleich ausfallen. Verf. vermutet, daß das starke Sinken der Populationsdichte im Juli auf eine Abwärtswanderung der Drahtwürmer, welche der Hitze entfliehen wollen, zurückzuführen ist.

Entwesungen mit „K“ und „S“ (Mischungen von o- und p-Dichlorbenzol) vermindern die Populationsdichte um 69 und 62%, sie hatten aber einen nachteiligen Einfluß auf die Pflanzen (Zuckerpflanzung) wegen einer zu schnellen Zeitfolge zwischen der Bodenbehandlung und der Aussaat. Als Nachwirkung im folgenden Jahr ergab sich eine Verminderung der Populationsdichte der Drahtwürmer und ein besseres Wachsen der Pflanzen.

Chlorpikrin vermindert die Population um 46 und 33%. Ein nachteiliger Einfluß auf die Ernte (Zucker und Gerste) wurde nicht festgestellt.

Das Entwesungsmittel „M“ (Natriumcyanid) verminderte die Population um 45% und steigerte den Ertrag der Ernte (Zucker). Die Nachwirkung war im folgenden Jahr bedeutungslos.

Rohnaphthalin vermindert die Populationsdichte um 60%, Teer und Kalk um 29%, Ammoniumkarbonat um 20%.

Andere Mittel, welche sich als unwirksam erwiesen, waren: Chlordinitrobenzol, Kalk allein und Superphosphat. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Wiesmann, R., Blasenfuß- oder Thripsschäden an Spalier- und Freilandreben. (Schweiz. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. Bd. 47. 1938. S. 417—422.)

Blasenfußschäden an Europäerreben waren bisher selten gemeldet. In der Schweiz sind sie aber an Spalierreben anscheinend gar nicht selten, deshalb wurden die Schädlinge hier eingehender studiert. Sie verursachen Schäden, sowohl an den Blättern junger Triebe, wie auch an den Trauben selbst. Als Schädling wurde Drepanothrips Reuteri erkannt. An Reben im Freien tritt dagegen D. tabaci auf, der ähnliche Schäden verursacht. Eine wirksame Bekämpfung ist noch nicht genügend bekannt. Vorläufig wird zweimaliges Bespritzen mit Nikotinseife oder mit einem Derrisspritzmittel empfohlen. Die zweite Bespritzung muß 10 Tage nach der ersten einsetzen, da man durch die erste Bespritzung, die am besten kurz vor der Rebblüte erfolgt, die im Blattinnern versteckten Eier nicht treffen kann. Um Schäden an Spalierreben vorzubeugen, sollten dort, wo der Schädling im Vorjahr aufgetreten ist, im folgenden Jahr die Bespritzungen rechtzeitig durchgeführt werden. *K. Müller (Freiburg i. Br.).*

Evans, A. C., Physiological Relationships between Insects and their Host Plants. I. The effect of the chemical composition of the plant on Reproduction

and Production of winged forms in Brevicoryne brassicae L. (Aphididae). (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 558—572.)

Verf. weist nach, daß unter Belichtungsverhältnissen, die den Bedingungen im Spätsommer entsprechen, die Stärke der Reproduktion von der Aphide Brevicoryne brassicae L. positiv beeinflußt wird durch den Stickstoffgehalt der Wirtspflanze und insbesondere durch den Proteingehalt. Die Entstehung geflügelter Formen wird von den gleichen Faktoren negativ beeinflußt. Die chemische Zusammensetzung der Pflanzen wirkt ein auf das Wachstum, ferner auf die Länge der Larvenperiode und auf das Puppengewicht von Pieris brassicae. Ebenso wird dadurch die Fraßintensität beeinflußt. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Busvine, J. R., The Toxicity of Ethylene Oxide to Calandra oryzae, C. granaria, Tribolium castaneum, and Cimex lectularius. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 605—632.)

Die Reihenfolge der Widerstandsfähigkeit von Calandra oryzae (Reiskäfer), C. granaria (Kornkäfer), Cimex lectularius (Bettwanze) und Tribolium castaneum gegen Blausäure, Äthylenoxyd und Schwefeldioxyd wurde festgestellt. Die Versuchstechnik wird beschrieben. Die Faktoren werden auf Grund der Versuchsergebnisse folgendermaßen eingeteilt:

1. Konstante Faktoren sind: a) Die Insektenart. b) Das Giftgas. 2. Veränderliche Faktoren sind: a) Solche, die die Menge des absorbierten Giftes bestimmen, also Konzentration, Zeit der Einwirkung, Temperatur. b) Solche, durch welche der physiologische Vorgang der Giftwirkung beeinflußt wird: Temperatur, Feuchtigkeit, Kohlendioxyd- und Sauerstoffgehalt, das Alter und Stadium der Insekten und der Einfluß des Hungerns. Für die untersuchten Insekten wird die Dosis letalis bestimmt.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Eckstein, F., Betrachtungen zur Maikäferbekämpfung. (Anz. f. Schädlingskde. Jahrg. 14. 1938. S. 49—51.)

Ein Arbeitsplan für Untersuchungen über das Maikäferproblem wird aufgestellt. Folgendes wird vorgeschlagen: Untersuchungen zur Erkennung und Festsetzung der Engerlingsschäden unter Berücksichtigung der verschiedenen Kulturen und des Alters der Schädlinge. Ferner sollen eingehende Untersuchungen über die bisher noch unbekannten Daten aus der Physiologie, Ökologie und Epidemiologie dieses Schädlings durchgeführt werden. Vor allem sollten die Engerlinge vor dem zweiten Jahr ihrer Entwicklung bekämpft werden. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Leuzinger, H., Quelques observations biologiques sur la pyrale grise du mélèze (Semasia diniana Gn.) en Valais. (Bull. de La Murithienne. T. 55. 1937/38. p. 60—66.)

Der graue Lärchenwickler trat im Sommer 1937 in den Hochtälern der Zentralalpen, zumal im Wallis, wieder einmal verheerend auf, so daß die Lärchenbäume im Sommer wie vom Feuer versengt dastanden. Aber auch schon 1936 waren in einzelnen Seitentälern solche Schäden zu bemerken. Verf. gibt eigene biologische Beobachtungen über den Schädling. Merkwürdig bleibt das öfters beobachtete periodische Auftreten des Wicklers.

Eine Bekämpfung ist kaum durchführbar, wegen der Abgelegenheit und Unwegsamkeit der Hänge, welche Lärchenwälder tragen. Vielleicht glückt eine Bekämpfung auf biologischem Wege. Dazu müßten aber zunächst die Parasiten des Lärchenwicklers näher studiert werden.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Hopf, H. S., Investigations into the nutrition of the Ash-Bark Beetle, Hylesinus fraxini Panz. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 390—405.)

Verf. untersucht die Enzyme des Darmtraktus vom kleinen Eschenbastkäfer Hylesinus fraxini, analysiert vergleichsweise die Rindennahrung und stellt den Stoffverbrauch und den Abbau fest.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Oekologie, biologische und chemische Bekämpfung tierischer Schädlinge.

Thiem, H., Versuche zur Bekämpfung der Pflaumensägewespen mit quassiahaltigen Fertigpräparaten. (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 553—567.)

Eigene Erfahrungen und die anderer Obstanbauer führten zu der Feststellung, daß Seifenzusätze zu Quassiabrühe die Haltbarkeit des Insektizides erheblich herabsetzten. Je nach der Dauer der Lagerung war der Wirkungsgrad verschieden, diese unangenehme Eigenschaft erklärt u. a. auch die widersprechenden Ansichten über den Wert des Präparates „Speculin". Verf. hat jetzt die schon früher begonnenen Versuche mit reinen Quassiapräparaten ohne jedwede Zusätze auf verbreiterter Grundlage fortgesetzt. Die mit Quassinum puriss. cryst. und insbesondere mit Q. depuratum Merck an den verschiedenen Stellen in der Umgegend von Berlin durchgeführten Spritzungen ergaben überall eine außerordentlich günstige Wirkung, wenn der Termin etwa 8 Tage nach der Abblüte lag (frühe und mittelspäte Sorten). Auch die nach einem bestimmten Plan von den verschiedensten Pflanzenschutzämtern durchgeführten Untersuchungen ergaben einwandfrei, daß die Quassinlösung denselben Wirkungsgrad besitzt wie eine selbsthergestellte Brühe aus Quassiaspänen. Starker Eibefall, selbst ungünstige Witterung (reichliche Niederschläge) setzen die Wirkung kaum herab. Amorphes Quassin ohne Seifenzusatz hält sich sehr gut, so daß die Anfertigung von Trockenpräparaten durchaus angebracht erscheint.

Skallau (Berlin).

Cartwright, K. St. G., A further note on Fungus Association in the Siricidae. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 430—432.)

Frühere Untersuchungen über die Symbiose von Sirex cyaneus (Holzwespe) mit einem Pilz (Basidiom.) wurden bestätigt. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Form von Stereum sanguinolentum. — In dem für die Entwicklung der Sirex-Larve vorteilhaften Feuchtigkeitsbereich geht das Wachstum des Pilzes nur sehr langsam vor sich. Unter dem Einfluß höherer Luftfeuchtigkeit wächst der Pilz stark heran, wobei die Larve geschädigt wird. Der Pilz wird während der Eiablage in das Holz übertragen, und zwar sowohl von Sirex cyaneus wie von Sirex gigas.

Der Pilz wurde in späten Puppenstadien in Drüsen an der Basis des Ovipositors von Weibchen der Holzwespe gefunden.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Tierkrankheiten. Tierparasiten.

Dowden, Ph. B., Rogas unicolor (Wesm.), a Braconid Parasite of the Satin Moth. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. 1938. p. 523—535.)

Rogas unicolor (Wesm.), eine Braconide, lebt parasitisch in dem Pappelspinner Stilpnotia salicis L. in Europa. 7000 Kokons wurden aus der Gegend von Budapest für die Vereinigten Staaten von Amerika gesammelt. Die Imagines wurden bei Neu-England und Washington ausgesetzt, jedoch nicht wieder gefunden.

Die verschiedenen Stadien der Parasiten werden beschrieben. Rogas unicolor hat eine Generation im Jahr. Die Überwinterung erfolgt im ersten Larvenstadium in der überwinternden Wirtsraupe. Die Entwicklung vollzieht sich im Frühjahr nur langsam, der Parasit ist erst erwachsen, wenn die Wirtsraupe bereits fast voll entwickelt ist. Die Puppenruhe dauert ungefähr 12 Tage, die erwachsene Schlupfwespe schlüpft gegen Ende Juni. Die Weibchen besitzen die Fähigkeit, sich parthenogenetisch zu reproduzieren. Gelegentlich treten auch Männchen auf. Von einem Weibchen werden maximal 322 Eier abgelegt. Die von den Parasiten infizierten Wirtslarven werden beträchtlich in ihrem Wachstum behindert. Kurz bevor der Parasit herangewachsen ist, spinnt die Wirtslarve ein dichtes, weißes Gewebe, in welchem der Parasit seinen Kokon anfertigt. Rogas unicolor wird durch eine Reihe von Hyperparasiten befallen. Aus dem bei Budapest gesammelten Material wurden 14 Spezies gezogen. Der wichtigste Hyperparasit ist Dibrachys cavus (Walk.). Der Hyperparasitismus ist ein wichtiger Faktor in der Begrenzung der Wirksamkeit der Parasiten.

Gößwald (Berlin-Dahlem).

Lund, Horace O., Studies on Longevity and Productivity in Trichogramma evanescens. (Journ. Agric. Res. Vol. 56. p. 421—439. 1938.)

Die Lebensdauer und Eiproduktion der Eischlupfwespe Trichogramma evanescens Westw. wurde unter verschiedenen Bedingungen geprüft. Als Wirt wurde Sitotroga (Kleinschmetterling, Tastermotte) verwendet.

Die Durchschnittszahl der Nachkommenschaft beträgt bei 25° C und 5 mm Sättigungsdefizit 66,1. Unter solchen Bedingungen lebt das Weibchen 6,3 ± 0,3 Tage, das Männchen 5,7 ± 0,2 Tage.

Da die mit Honig gefütterten Weibchen länger leben und eine größere Reproduktionsfähigkeit haben als nicht-gefütterte Weibchen, sollte man die Parasiten vor ihrer Überwinterung füttern.

Bei der Darbietung von Wirtseiern leben die Weibchen länger als ohne diese. Werden jedoch die Eier 48 oder 72 Std. vorenthalten, vor Beginn des Versuches, so bleibt die Lebensdauer unbeeinflußt, weil die Eiproduktion herabgemindert wird. Deshalb sollten nur junge Parasiten in den Feldern freigelassen werden.

Die Paarung soll die Fruchtbarkeit vermindern, die Lebensdauer dagegen unbeeinflußt lassen.

Weibchen, die aus überparasitierten Wirten schlüpfen, erzeugen weniger Nachkommen als normale Weibchen, sie leben jedoch ebensolange wie diese. Männchen, die unter den gleichen Bedingungen geschlüpft sind, befinden sich im Vollbesitz ihrer geschlechtlichen Tätigkeit, sie leben jedoch weniger lang als normale Männchen.

Weibchen, die in diffusem Licht gehalten wurden, leben ein wenig länger als Weibchen, die in vollständiger Dunkelheit gezogen wurden, sie besitzen jedoch die gleiche Produktionsfähigkeit.

Die optimale Temperatur für die Produktionsfähigkeit ist in jedem Fall 25° C. Eine ungewöhnlich große Zahl von Männchen entwickelt sich bei 15° C. Werden die Imagines entweder zu hoher oder zu niedriger Luftfeuchtigkeit ausgesetzt, so wird ihre Produktionsfähigkeit etwas vermindert, aber nicht so sehr wie die Lebensdauer. Werden dagegen unreife Stadien zu hoher oder zu niedriger Luftfeuchtigkeit ausgesetzt,

dann wird die Produktionsfähigkeit der daraus hervorgehenden Imagines erheblich vermindert, während die Lebensdauer unbeeinflußt bleibt. Die vorteilhafteste Feuchtigkeit im Freien, bei welcher die Parasiten auszusetzen wären, liegt bei 5 mm Sättigungsdefizit oder darunter. In Laboratoriumszuchten genügen Feuchtigkeitsverhältnisse von 10 mm Sättigungsdefizit oder weniger. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Weber, Trichogramma als Bekämpfungsmittel der Gemüseschädlinge. (Obst- u. Gemüsebauwirtschaft. H. 5. 1938. S. 55—56.) [Russisch.]

Die Anwendung der Trichogramma zur Bekämpfung der Mamestre brassicae L. ergab folgende Resultate: Trichogramma (in Mengen von 200 000/1 ha, geteilt in drei Gaben, je nach 5 Tagen) vernichtete 76,0—81,4% Eier des Schädlings; die Beschädigung der Kohlblätter durch die Raupen betrug nur 7,2% gegen 31,8 auf Kontrollparzellen. Trichogramma besitzt die Fähigkeit, sich im Laufe des ganzen Sommers in den Mengen zu vermehren, die im Gemüsebau für die Schädlingsbekämpfung eine praktische Bedeutung spielen können (im Laufe des Sommers legen ca. 8—10 Schädlingsarten auf verschiedenem Gemüse Eier ab). Die örtliche Verbreitung der Trichogramma geht ziemlich rasch vor sich: es vermochte bei den Versuchen im Laufe von 60—70 Tagen sich auf einer Fläche von 250—300 m zu verbreiten. *M. Gordienko (Berlin).*

Tarr, H. L. A., Studies on American Foul Brood of Bees. II. The Germination of the Endospores of Bacillus larvae in Media containing embryonic tissues. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 633—643.)

Das Gewebe des sich entwickelnden jungen Bienenembryos ist ein geeigneteres Substrat für die Keimung der Endosporen des amerikanischen Faulbrutbazillus, Bacillus larvae, als irgendein anderes bisher beschriebenes Medium. Durch die Beigabe von Rindfleischbrühe zu einem Medium zerhackter junger Bienenembryonen wird die Keimung der Sporen eher gehemmt als gefördert. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Hobson, R. P., Sheep Blow-Fly Investigations. VII. Observations on the development of eggs and oviposition in the Sheep Blow-Fly, Lucilia sericata Mg. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 573—582.)

Verf. stellt fest, welchen Einfluß die Temperatur ausübt auf die Zeit, welche benötigt wird zur Entwicklung der Ovarien in der Schaf-Schmeißfliege Lucilia sericata Mg. Bis zur Entwicklung reifer Eier vergingen bei 37° C 2 Tage, bei 30° C 3 Tage, bei 23° C 4,5 Tage, bei 19,5° C 7 Tage, bei 15—16° C 13 Tage. Ferner wurde die Dauer der Eiablage bei verschiedener Temperatur untersucht. Die äußersten Grenzen waren 1—1,5 Tage bei 37° C und 4,5—8 Tage bei 15—16° C.

Zwei Mahlzeiten an Fleisch genügen für die Entwicklung reifer Eier in den Ovarien. Diese Nahrung genügt auch zur weiteren Produktion von Eiern nach der ersten Eiablage.

Weder pflanzliche Substanzen noch Tierexkremente bieten einen Ersatz für die Ernährung des Weibchens mit Fleisch, wenn Eier in den Ovarien entwickelt werden sollen. Verschiedene Fäulnisstoffe reizen ablagebereite Weibchen zur Eiablage, jedoch sind diese Stoffe nicht in der Lage, Fliegen aus der Ferne anzulocken. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Abgeschlossen am 13. Februar 1939.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 100. No. 4|8.
Ausgegeben am 12. April 1939.

Resistance of Non-Spore-Forming Bacteria to Heat.

[Department of Bacteriology, University of Illinois, Urbana.]

By **Parker R. Beamer** and **Fred W. Tanner.**

With 6 figures in the text.

As soon as the canning industry began to introduce scientific in place of "rule-of-thumb" methods, it became necessary to determine as accurately as possible heat-resistance of microorganisms which might be involved in spoilage. Numerous reports have been published on heat resistance of bacteria, particularly spore-forming and thermophilic organisms, but few on non-spore-forming organisms. This is probably largely due to the fact that the latter organisms are not as important in food spoilage and poisoning as are spore-bearing species.

Studies on heat resistance of microorganisms date back to 1745, the time of the interesting controversy between Needham and Spallanzani concerning spontaneous generation. The latter recommended boiling for three-quarters of an hour to prevent spoilage of food substances.

Knowledge of heat resistance of microorganisms is desired in several instances and for various reasons. The significance of such information in the canning industry is well known. It is necessary to know the resistance of spoilage bacteria to arrive at satisfactory processes for canned foods. Preparation of various products, as "cat-gut" for surgical work, is founded on destruction of bacteria by heat. In pasteurization of milk, much work has been done on the heat resistance of microorganisms at pasteurization temperatures. While most of it has concerned non-pathogenic forms, much has also been done with Mycobacterium tuberculosis. Besides these practical problems, it is frequently desirable to determine temperature relations including heat resistance as one of the differential characteristics for classifying bacteria.

I. Historical.

As mentioned above, some of the first work on heat resistance of bacteria was involved in the controversy of Spallanzani and Needham concerning spontaneous generation and preservation of foods. Appert later showed that heat could be used for preservation of foods in what he believed were hermetically sealed containers.

Publications by Bigelow and Esty (1920), Bigelow (1921), Esty and Williams (1924), Esty and Meyer (1922), Tanner and McCrea (1923), Williams (1929), Sommer (1930) and several others have contributed to our knowledge on heat resistance. Studies by these investigators are discussed in more detail later in this paper.

Many investigations have been made on the thermal death time of organisms occurring in milk. Scheresschewsky (1912) said that heating milk to 60° C. (140° F.) for twenty minutes was insufficient for complete sterilization. However,

such treatment destroyed most non-spore-forming bacteria, including pathogens. Likewise, Prucha (1927) concluded that 99 per cent of bacteria generally present in milk were killed by heating at 62.8° C. (145° F.) for 30 minutes. Some of the initial counts were as high as 300,000,000 per c.c. Forty five strains were killed by this treatment; thirty-four strains, present only in small numbers, were not affected.

Resistance of coliform bacteria in milk subjected to pasteurization temperatures has been studied by many investigators. In one hundred samples of milk pasteurized at 62.8° C. (145° F.) for 30 minutes, Beavens (1930) found that coliform organisms survived in 32 cases. By subculturing survivors, a strain was isolated whose absolute death point was 64.4° C. (148° F.) for 30 minutes. Ayers and Johnson (1915), using the open tube method in a water bath, discovered one strain that remained viable after heating at 65.6° C. (150° F.) for 30 minutes. Tanner and Windsor (1929) studied heat resistance of Escherichia coli and Serratia marcescens in milk using sealed tubes according to the method of Bigelow and Esty. One strain of Escherichia coli was not killed by 62.8° C. (145° F.) for 30 minutes. Henneberg and Wendt (1935) said that coliform strains capable of withstanding heat at 63° C. (145° F.) for 24—30 minutes are relatively uncommon in milk. Graham (1936) tested 46 coli-aerogenes organisms, using a temperature of 62.5° C. (144.5° F.) for 30 minutes. Only one pure strain survived this process but, using some mixed strains, four cultures were found to survive such treatment. Perhaps these results are more significant since bacteria do not ordinarily occur in milk and other foods as pure cultures. Anderson (1924) and Oerskov (1925) likewise encountered pure strains of Escherichia coli which were resistant to a temperature 63° C. (145° F.). Myers and Sorenson (1936) used sealed tubes for studying heat resistance of Escherichia coli in ice cream. Results indicated that ice cream mix should be pasteurized at 68.3° C. (155° F.) for 30 minutes to assure destruction of the organism. Data reported by Clague and Fellers (1933) in a study of pasteurized packaged dates indicate that Escherichia coli, and also strains of Salmonella enteritidis and Salmonella schottmülleri, are resistant to heat at various temperatures and different humidities.

Appraisal of the significance of the results reported in these papers, is somewhat difficult. Little information is available in many of them to indicate that factors recognized as important in thermal death time determinations, such as concentration of cells, hydrogen ion concentration, heat penetration and age of cells were given due consideration. Until these factors are considered, results and conclusions will always be open to question. It seems to be quite evident, however, that a considerable number of strains of Escherichia coli may survive temperatures and times used in pasteurization of milk.

Importance of typhoid-paratyphoid-dysentery organisms in etiology of disease and food intoxication has stimulated investigation of their heat resistance. Frost and Swenson (1906) exposed four strains of Shigella dysenteriae Shiga to temperatures of 55—72° C. (131—161.6° F.); the majority of cells were killed between 55—60° C. (131—140° F.). Frequently, a small number, perhaps one in 100,000, might persist even at 70° C. (158° F.). Hydrogen ion concentration was not responsible for the wide variation since similar results were obtained with acid or alkaline media. Rosenau (1908, 1912) heated Eberthella typhosa and related bacteria in milk, obtaining data in agreement with those reported above. Heating milk at 60° C. (140° F.) for 2 minutes destroyed typhoid bacilli, but dysentery organisms remained viable after five minutes' treatment.

Temperatures used for pasteurization of milk, have, in general, ranged from 60—63° C. (140—145° F.). According to Anderson (1925) heating milk at 63° C. (145.4° F.) for 30 minutes destroyed strains of typhoid, paratyphoid and Gaertner's bacilli. Streptococci were used in fifteen trials; in four trials the organisms remained viable after heating. Observations of numerous investigators indicate paratyphoid organisms are probably more resistant to heat than Eberthella typhosa. Oerskov (1925) found various paratyphoid strains that could resist 63° C. (145.4° F.) for two to three minutes, while strains of Eberthella typhosa were killed in one minute. A pH range between 6.0 and 8.0 had no influence on the thermal death time, but beyond these limits the resistance of the organism diminished. An investigation by Krumwiede and Noble (1921) furnished no evidence that members of the typhoid or paratyphoid groups survive 60° C. (140° F.) for twenty minutes. Such conclusions seem to have been confirmed by Geiger and Kelly (1916) in an epidemiological report of a typhoid fever outbreak due to raw milk. Pasteurization of milk from the same source prevented an outbreak in a neighboring town. Results

contradictory to those offered by most workers were obtained by Twiss (1920). She found that various strains of the typhoid-paratyphoid group survived 30 minutes heating in milk at 60° C. (140° F.). Krumwiede and Noble believed that the results of Twiss were invalidated by use of open tubes instead of sealed tubes. Some strains of Salmonella schottmülleri survived similar exposure at 65° C. (149° F.). The possibility exists that only certain resistant cells withstand the high temperature, the majority being killed as the temperature approaches 60° C. (140° F.). Such an explanation offered by Gage and Stoughton (1906) in a study of the laws governing the resistance of Escherichia coli to heat is that the majority of bacterial cells in a culture are destroyed at a certain temperature in a relatively short time, while a few may survive much higher temperatures. This has been the experience in all heat resistance work where heavy suspensions have been used.

Presence of other pathogenic organisms in milk has also stimulated research on their heat resistance. Davis (1916) tested seventy-four strains of hemolytic milk streptococci. A temperature of 71.1° C. (160° F.) for thirty minutes was required to completely destroy the organisms in milk menstruum; 60° C. (140° F.) for thirty minutes was adequate to destroy twenty-four strains. More recently Park (1928) has obtained results which confirmed those of Davis. Beta-hemolytic streptococci isolated from human pathological tissues were killed by heating to 62.5° C. (144.5° F.) for 30 minutes. Certain non-hemolytic strains withstood the treatment. Oldenbusch, Frobischer and Shrader (1930) studied thermal death points of various pathogens in ice cream mix and recommended pasteurization at 62° C. (143.5° F.) for thirty minutes. North and Park (1927) concluded that 61.1°C. (142° F.) for thirty minutes is sufficient to render milk free of Mycobacterium tuberculosis.

II. Technic for Thermal Death Time Determinations.

Methods for the determinations of thermal death time have evolved slowly. The early methods gave information mainly on what was termed by the earlier workers the absolute "thermal death point", i. e., the degree of heat required to kill all living cells. The "majority" thermal death point was that temperature at which the majority of cells were killed. At this stage in the development of methods for studying heat resistance of bacteria, interest centered mainly in the temperature which gave rise to the expression "thermal death point" — a point on the temperature scale where bacteria died quickly. In these early days time was standardized and temperature allowed to vary. The Society of American Bacteriologists recommended that the organism under study be exposed in nutrient broth for ten minutes at the temperature under study. Later, owing to demand from certain industries in which it was necessary to know much about heat resistance of microorganisms, the temperature was standardized and the time allowed to vary. The temperatures adopted for study were those of interest in the industry. While these procedures gave much valuable information, they gave none about the rate of death and in some cases gave misinformation. For instance, a heavy suspension of spores might be heated and subcultured into sterile media. If growth resulted it was stated that the organism was not killed despite the fact the vast majority of cells may have been destroyed.

In most cases the microorganisms were spore formers and new methods had to be introduced. The spore suspensions were sealed in glass tubes and completely submerged under the medium in which they were being heated.

Sternberg (1893) was perhaps the first to suggest the use of a sealed tube. He developed what was known as the Sternberg bulb, a blown glass bulb with a tapering neck drawn to a fine bore at right angles to the bulb. The bulb was filled by gently heating it after which the neck was inserted into the suspension to be studied. As it cooled, the sample was drawn into it. The neck was then sealed in the flame. The bulbs were heated in a water bath. The heat penetration factor was apparently not appreciated. Data obtained without considering this important factor cannot be very accurate.

In contrast with the sealed tube method used mainly with spore forming anaerobic bacteria, is the open tube method used with aerobic non-spore-forming organisms. The relative merits of both methods have been discussed by several investigators and differences in results attributed to the method used.

Heat resistance of aerobic non-spore-forming organisms was studied by Gage and Stoughton (1906), Frost and Swenson (1906), Ayers and Johnson (1914) and several others. In these investigations the workers placed milk or the medium under study in culture tubes and heated them in oil or water baths. This is an open tube technic, in which tubes are not sealed but are stoppered with cotton plugs. Shippen (1915) studied heat resistance of Escherichia coli in milk and used the sealed tube method of Sternberg.

Heat resistance of aerobic spore-forming bacteria was studied by Ford and his colleagues in 1916. Broth cultures were exposed to heat in the Arnold sterilizer and autoclav. Apparently the test was not standardized to the extent of knowing the number of cells heated or effects of factors controlling penetration of heat into tubes.

Bigelow and Esty (1920) were probably the first to consider some of the factors now recognized to be very important and to propose a standard technic for determining resistance of microorganisms to heat. Their proposal involved an accurately controlled oil bath and special thermal death time tubes of soft glass 250 m.m. long, 7 m.m. inside diameter and a wall thickness of 1 m.m. The menstrua in which the bacterial spores were suspended were juices expressed from the contents of various canned foods. These had received one heat treatment which probably changed them considerably from the fresh products. When a juice had been inoculated with the spore suspension it was introduced into the thermal death time tube which was then sealed and placed in the oil bath. Fifteen seconds were allowed for the tube to come to bath temperature before time was counted. This method was later referred to as the "single tube method" in contrast to the one proposed later by Esty and Williams (1924). One difficulty with the method just described was so-called "skips" indicating destruction of organisms at shorter times when longer heating would permit viable cultures. Esty and Williams gave considerable attention to "skips" and in order to reduce their incidence introduced what is known as the "multiple tube method". Instead of heating one tube, a large number were heated, from 25 to 30, each containing a portion of the same suspension, all heated alike for at least four different times, selected to cover the entire range of heat resistance based on percentage survival. Esty and Meyer (1922) used the Bigelow and Esty (1920) "single tube method" in a comprehensive investigation of the heat resistance of 109 strains of Clostridium botulinum. Variations in heat resistance of from three to eighty minutes at 105° C. (221° F.) were noticed. Similar variations were reported for spores of other anaerobic bacteria. Several important influencing factors were also discussed. Weiss (1921), Dickson, Burke, Beck, Johnston and Kreig (1922), Dickson, Burke, Beck and Johnston (1925), Williams (1936) and several others have used this method. Another procedure was proposed by Magoon (1926). In order to reduce the error caused by slow heat penetration, capillary tubing made of Pyrex glass, as was suggested by Bigelow and Esty (1920) were used. At regular intervals, tubes were removed, ends snipped and the contents of each tube were incubated in a good medium. Williams (1929) in studying heat resistance of bacterial spores used Magoon's technic at first, but, having experienced difficulty with this method, he discontinued it and used that of Esty and Williams. Jones (1937) reviewed methods used by previous investigators and proposed a modification of Magoon's technic adapted especially to study of non-spore-formers.

An "open tube method" wherein the tube is stoppered with a cotton plug has also been used. Dickson, Burke and Ward (1919) immersed glass test tubes (containing ten c.c. of spore suspension) in water so that the surface of the suspension was about two inches below the level of the bath. Every fifteen minutes transfers were made into dextrose agar with a pipette. No attempt was made to determine numbers of survivors. Burke (1919) also used this method of exposing spore suspensions to action of free-flowing steam and steam under pressure. In some experiments flasks were used. Myers (1928) and Park (1927), as well as others, have used open tubes for heat resistance studies, particularly in study of non-spore-forming organisms.

This method has been criticized by some for it was believed that living cells might exist in the tube above the suspension and not be subjected to the influence

of heat. While this may occur if attempts are not made to guard against it, sufficient work with this method has been done to indicate that it may be used if proper precautions are enforced. Frequent attempts to determine presence of viable cells above the surface of the menstruum with sterile swabs were negative. Furthermore, at the end of the heating time, all of the remaining contents of the tube were poured into a petri dish and plated.

In view of the importance of results on thermal death time on bacteria related to the canning industry, special apparatus has been developed by bacteriologists in that industry. Some of it has been described by Williams, Merrill and Cameron (1937) and Townsen, Esty and Baselt (1938).

III. Factors Influencing Heat Resistance.

The various factors which influence heat resistance of bacterial spore suspensions have been discussed by various investigators. The same factors probably influence death rates of non-spore-forming bacterial suspensions.

Hastings, Fred and Carroll (1926) attempted to improve the technic for determining heat resistance of bacteria by describing the essential conditions under which the determinations should be made. Basing their argument in the beginning of their paper on the wide difference in results reported on heat resistance of Mycobacterium tuberculosis in milk pasteurization, they pointed out the conditions which are required in accurate work. They overlooked the fact that heat resistance of various strains of an organism may vary widely and might not necessarily be attributed entirely to technic. Many investigators in this field have worked with but one strain. They claimed that environmental factors were the important ones. If these are favorable, there should be no difference in results when heavy or light seedings are made following exposure of spores of anaerobes to heat. They claimed that much of the confusion with reference to heat-resistance of certain anaerobes is to be traced to an unfavorable environment to wich the spores are subjected following exposure to heat. Their pleas for best environmental conditions are well taken and they have probably been considered in most laboratories where much heat-resistance work has been carried out. Hastings, Fred and Carroll (1926) also claimed that troublesome "skips" could be eliminated. This is probably true for heavy suspensions of viable cells but not for light suspensions. Sampling light suspensions with a pipette might yield portions with no spores; on the other hand, the portion might contain most of the spores present.

Sommer (1930) studied heat resistance of spores of Clostridium botulinum and recommended filtration of suspensions through gauze if necessary and shaking with glass beads for ½ hour in a mechanical shaker. Careful technic, he believed, would help reduce errors to a minimum. Closely related to this factor is thickness of suspension. Esty (1923), Hückel (1926), Williams (1929), and others have shown that spores or bacteria in suspension show greater resistance to heat when present in very high numbers.

Age of culture also influences thermal death results.

Heiberg (1933) heated Escherichia coli at 53° C. (127.4° F.) for fifteen minutes. Cultures of 62 hours were reduced in number only twelve fold whereas 1¾ and 2¾ hour cultures were reduced respectively 10,000 and 2,000 times. Henneberg and Wendt (1935) pointed out that heat resistance is not necessarily a common property of certain strains, but is subject to physiological fluctuations. They believed, for example, that changes may be induced in non-heat-resistant strains by alternations in culture media. Van der Sluis (1909) had previously reported that cells of Mycobacterium tuberculosis artificially added to milk were more resistant than cells normally present in milk. Differences in rate of heat penetration are also involved when different media are used. Data collected by Doorenbos and Mulders (1924) indicate that in water Shigella dysenteriae Shiga is killed in one minute's exposure to 60° C. (140° F.); in milk an exposure of six minutes is necessary.

Often the hydrogen ion concentration of media causes differences in thermal death time results.

Lang and Dean (1934) found that pH values of 5.2—6.8 seemed to give no correlation with resistance. Bigelow and Esty (1920), Dickson, Burke

and Ward (1919), and other workers have agreed that reaction of the medium may not noticeably reduce thermal death time. According to Williams (1929) heat resistance is greatest at pH 7.0, whereas reactions above or below this cause decreased heat resistance.

Early bacteriologists apparently paid little attention to a problem in heat resistance work which greatly influenced their results. It had been suggested by some workers that heated cells might be so injured that they would not develop when placed in the test medium to determine viability.

Eijkmann (1908) was one of the first to show this phenomenon with non-spore-forming organisms. In one experiment he incubated plates made with heated suspensions of Escherichia coli (Bact. coli communis) for three and fifteen days. No colonies appeared after three days' incubation while 640,000 were counted after fifteen days. Dickson, Burke, Beck and Johnston (1925) found that germination time of Clostridium botulinum spores after exposure to heat may be greatly delayed even when placed in suitable environment for growth. In some tubes growth was not detected until 23—39 months later. Magoon (1926) on the other hand believed heat treated spores were sluggishly active, not assuming their full capacities for some time. This problem is one which must be considered since it may seriously affect thermal death time data.

IV. Method of Expressing Results.

Results of earlier methods were qualitative. Attempt was merely made to determine whether viable cells would be left in a suspension after a known period of time. Frequently the number of cells in the suspension was not stated. Such information was often misleading for some heated suspensions still contained living cells even though the death rate had been tremendous. Ayers and Johnson (1914, 1924) in view of such a situation stated that the "absolute" and "majority" thermal death time should be taken into consideration in milk pasteurization. Gage and Stoughton (1906) had previously introduced the term "majority" thermal death point for the point at which the majority of the cells present had been killed. The "absolute" thermal death point was the degree of heat required to kill all living cells. Ayers and Johnson (1924) reported the "majority" thermal death point of a culture of Aerobacter aerogenes to be below 57.2° C. (135° C.) and the "absolute" a little above 65.6° C. (150° F.) when the temperature was maintained for thirty minutes. More recently Williams and Merrill (1937) expressed the need for improvement in heat resistance studies methods. The methods now in use determine an absolute death time of every last cell rather than resistance as a whole. Studies should determine thermal death time of 99 or 99.9 per cent of the suspension rather than the death time of every cell. This eliminates the most resistant organisms which are very few in number but cause a much longer thermal death time.

Several methods have been used for expressing results obtained after heat treatment of organisms. Eijkmann (1908) was among the first to use curves in showing rate of destruction of bacteria by heat. He made quantitative counts at intervals and plotted survivors against time. Curves were sigmoid in nature: (1) period of lag, (2) period of logarithmic decline, and (3) a second period of lag.

Later work on disinfection and heat resistance raised the question as to order of death in bacteria. Some investigators believed the death rate to be logarithmic; others believed it was non-logarithmic. A third group, perhaps neglecting heat penetration as an important factor, believed that death rate of bacteria followed a sigmoid curve.

Bigelow (1921) using data reported by Bigelow and Esty (1920) plotted the results on semi-logarithmic paper instead of coordinate paper. The curves were so drawn that they passed between the last positive and first negative in the greatest number of pairs of observation points with each organism. Such curves are straight lines, or nearly so, and from them may be secured the thermal death time of the organism between the temperatures which were used for constructing the curve. Bigelow's work was done with spore-forming, thermophilic bacteria. He stated that it would be interesting to determine whether the procedure could be applied to non-spore-forming bacteria such as those used in this investigation. Since no data were available in the literature, Bigelow determined the heat resistance of four such organisms received under the names Bacterium alkaligenes, Bact. coli, Bact. aerogenes, and Bact. proteus, at temperatures of 40° C. (104° F.) to 65° C. (149° F.) at five degree intervals. He did not find as consistent results with these organisms as he did with the thermophilic bacteria. Bigelow did state, however, that thermal death time curves for these organisms were logarithmic.

Since Bigelow's suggestion that death in non-spore-forming bacteria is logarithmic, several investigators have published results. Viljoen (1926) studied the protective effect of NaCl on bacterial spores heated in pea liquor. Using the multiple sealed tube method of Esty and Williams (1924) he obtained results which indicated that spores under influence of high temperatures decrease in number according to the law of unimolecular chemical reactions. Williams (1929) also has contributed to knowledge of this phenomenon. He worked with spores of Bacillus subtilis, using sealed tube method after Esty and Williams (1924). The logarithms of numbers of survivors were plotted against time in minutes and a sigmoid curve resulted, becoming concave toward the point of origin near the end of the experiment. The heat penetration factor apparently was not considered. Recently, Baker and McClung (1939) have made heat resistance studies and reported data which indicate a logarithmic death rate in Escherichia coli.

Rahn (1929, 1930) believed that logarithmic rate of death occurs in bacteria, perhaps with a few variations. He theorized that death is normally logarithmic in unicellular organisms since it is brought about by essential molecules being inactivated, thus preventing multiplication. He therefore believed that decreasing death rates can be accounted for by the assumption of variation in resistance of cells under test. Knaysi (1930 a, 1930 b) worked on disinfection death rate and considered death curves as non-logarithmic. He pointed out that last portions of logarithmic curves must of necessity become concave wherever percentage of survivors approaches zero.

The plotting of death curves on semi-log paper was used by Spiegelberg (1935) to show order of death in non-spore-forming organisms, and others, causing spoilage in pineapple. His method was essentially that of Bigelow (1921). Data plotted are not quantitative but are positive and negative points obtained at various intervals. Although curves obtained with non-spore-formers are not as accurate as those for spore formers, he believed they were sufficient to indicate comparative resistances of various strains. Watkins and Winslow (1932) placed inocula of Escherichia coli (communis type) in 500 c. c. round bottom Woulff flasks and heated at 55° C. (131° F.) in a water bath. Curves obtained on semi-log

paper were not actually logarithmic. However, the authors believed that thermal death time was actually logarithmic since several factors may alter the curves. For example, the dead cells may provide insulative material for protection from heat for cells yet alive.

V. Technic.

The standard thermal death time technics are not entirely free of criticism. Each procedure thus far suggested involved manipulation which may induce considerable error and lead to faulty conclusions. In most cases sealed tubes have been used, heated in oil baths and removed at arbitrarily chosen intervals. Contents of tubes were either incubated directly and observed for turbidity, or they were first subcultured and then observed. These methods do not render quantitative results, but merely indicate viability of organisms, the numbers present perhaps varying from few to several hundred.

Selection of a proper method or securing quantitative results in heat resistance studies is not easy. Open tubes provide a satisfactory method because samples may be removed at chosen intervals. Attempt has been made to standardize the procedure chosen so results may be compared.

Organisms were cultured on agar slants for 18—24 hours and growths were washed off in small amounts of the suspending medium. Suspensions were then introduced into a sterile bottle containing sterile Pyrex glass beads. After shaking with a mechanical shaker twenty minutes, organisms were filtered through sterile cotton into sterile tubes. This preparation constituted the stock suspension. In cases where the menstruum was an acid medium, organisms were suspended is small amounts of physiological NaCl solution.

Pyrex glass tubes of uniferm dimensions (150 m.m. × 18 m.m.) with walls of one millimeter thickness were used. Ten c.c. of the menstruum were pipetted into the sterile tube and approximately 0.5 c.c. of stock suspension added. After thorough mixing the tube was placed in an oil bath so the medium was midway between upper and lower surfaces of the bath. Determinations were made at 55° C. (131° F.), 60° C. (140° F.), and 65° C. (149° F.). Temperature of the bath was controlled by low gas flame and did not vary over 0.5° C. (0.9° F.). Every five minutes 0.1 c.c. of suspension was transferred into sterile water blanks for dilution and plate counts were made. At the end of the determination the entire contents of the tube were plated out in addition to the regular portion.

Care must be taken to allow only a minimum of experimental error. Temperature of the oil bath was carefully regulated and kept constant by agitation with a glass rod at one "figure 8" cycle per second through an amplitude of two to three inches. The tube containing the suspension was held in place by a clamp. When transfers were made, pipettes were introduced at approximately the same angle and immersed to the same depth each time. One-tenth c.c. was removed and placed directly into water blanks and, after mixing, into sterile Petri dishes. Melted agar, pH 7.0, already cooled, was added and plate contents mixed. Plates were incubated at 37° C. (98.5° F.) for forty-eight hours. A hand lens of 2½ times magnification was used in counting.

Sterile, unheated fruit juices were obtained by soaking fruit in 1: 1000 $HgCl_2$ solution thirty minutes and rinsing in sterile, distilled water four times, five minutes each. The fruit was then placed in the "extractor can", containing sterile gauze, a sterile flask, and a sterile knife. The technician then introduced his hands into the can through sterile rubber gloves attached to the outside, and juices were expressed aseptically. Plate counts were made on five c.c. portions of juices thus obtained to test for absence of organisms.

Bacteria used in this study were chosen from the University of Illinois collection. The typhoid strain was a transplant of ATC 305, originally isolated by Miss Gilbert of New York State Health Department. Aertrycke, enteritidis and Schottmuelleri organisms were subcultures of strains 222, 206 and 127 of the E. O. Jordan collection, University of Chicago. Salmonella paratyphi was obtained from Parke Davis and Company, where it is used in the preparation of antiserum. These strains give typical cultural and biochemical reactions. Staphylo-

coccus aureus was a transplant of University of Chicago culture 42, isolated from a case of food poisoning. All strains were kept on plain agar in stock cultures.

Plain broth in which organisms were suspended was made as follows:

Peptone	5 grams
Beef extract	3 ,,
Distilled water	1000 c.c.

To obtain acid broth, pH 3.65, reaction of the above broth was adjusted with acetic acid.

VI. Results and Discussion.

Investigators working with various non-spore-forming microorganisms have indicated that data obtained in their experiments were not as consistent as those obtained in working with spore formers. Several errors may influence results. In the present study an attempt was made to show trends of death curves of various non-spore-formers, not merely by recording presence or absence of growth, but by quantitatively determining rates of death. Plate counts probably are inaccurate and should be used only as estimates. These estimates, however, may be used in determining rate of death since errors in counting colonies will not noticeably effect the results. Care was taken to standardize the procedure as much as possible so that data obtained would provide a satisfactory basis for comparison.

Determination of hydrogen ion concentration was carried out with an electrometer. The glass electrode employed gives accurate readings for any pH values between one and ten. Especially at pH readings below ten, values are dictated almost entirely by hydrogen ion concentration.

Table 1. Eberthella typhosa (ATC 305).
0 indicates absence of colonies.

		55° C.	60° C.	65° C.
Broth suspension pH 7.05	Count per c.c.	9,800,000	7,600,000	9,600,000
	— 0.8 min.	2,400,000	288,000	100
	4.3 min.	336,000	100	0
	8.9 min.	108,000	30	0
	13.8 min.	6,200	0	0
	18.8 min.	250	0	0
	23.8 min.	0	0	0
	28.8—33.8 min.	0	0	0
Broth suspension pH 3.65	Count per c.c.	4,000,000	4,140,000	4,400,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Gooseberry juice pH 2.85	Count per c.c.	600,000	800,000	800,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Raspberry juice pH 3.25	Count per c.c.	1,000,000	990,000	1,100,000
	0.8 min.	60	0	0
	4.3—33.8 min.	0	0	0
Blackberry juice pH 3.10	Count per c.c.	1,300,000	1,300,000	1,400,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Tomato juice pH 4.2	Count per c.c.	1,200,000	1,250,000	1,250,000
	0.8 min.	46,400	9,000	340
	4.3 min.	3,060	0	0
	8.9 min.	20	0	0
	13.8—33.8 min.	0	0	0

Table 2. Salmonella paratyphi (Parke Davis strain).
0 indicates absence of colonies.

		55° C.	60° C.	65° C.
Broth suspension pH 7.05	Count per c.c.	9,300,000	11,000,000	9,000,000
	0.8 min.	960,000	756,000	300
	4.3 min.	210,000	970	0
	8.9 min.	10,700	0	0
	13.8 min.	900	0	0
	18.8 min.	400	0	0
	23.8 min.	280	0	0
	28.8 min.	180	0	0
	33.8 min.	110	0	0
Broth suspension pH 3.65	Count per c.c.	2,500,000	3,000,000	3,750,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Gooseberry juice pH 2.85	Count per c.c.	456,000	500,000	500,000
	0.8 min.	100	0	0
	4.3—33.8 min.	0	0	0
Raspberry juice pH 3.25	Count per c.c.	940,000	900,000	900,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Blackberry juice pH 3.10	Count per c.c.	2,200,000	2,240,000	2,265,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Tomato juice pH 4.2	Count per c.c.	1,200,000	1,310,000	1,300000
	0.8 min.	2,130	contam.	0
	4.3 min.	10	0	0
	8.9—33.8 min.	0	0	0

Table 3. Salmonella schottmuelleri (Ill. Med. College 127).
0 indicates absence of colonies.

		55° C.	60° C.	65° C.
Broth suspension pH 7.05	Count per c.c.	8,400,000	10,000,000	8,800,000
	0.8 min.	864,000	81,000	4,200
	4.3 min.	228,000	400	200
	8.9 min.	11,000	150	60
	13.8 min.	2,100	100	0
	18.8 min.	900	0	0
	23.8 min.	720	0	0
	28.8 min.	330	0	0
	33.8 min.	220	0	0
Broth suspension pH 3.65	Count per c.c.	4,600,000	4,800,000	4,600,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Gooseberry juice pH 2.85	Count per c.c.	340,000	356,000	360,000
	0.8 min.	80	0	0
	4.3 min.	10	0	0
	8.9—33.8 min.	0	0	0
Raspberry juice pH 3.25	Count per c.c.	1,100,000	1,250,000	1.200,000
	0.8 min.	120	0	0
	4.3—33.8 min.	0	0	0
Blackberry juice pH 3.10	Count per c.c.	1,200,000	1,340,000	1,250,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Tomato juice pH 4.2	Count per c.c.	1,310,000	1,600,000	1,600,000
	0.8 min.	186,000	11,670	100
	4.3 min.	3,450	128	0
	8.9 min.	28	0	0
	13.8—33.8 min.	0	0	0

Table 4. Salmonella aertrycke (Jordan 222).
0 indicates absence of colonies.

		55° C.	60° C.	65° C.
Broth suspension pH 7.05	Count per c.c.	9,700,000	10,200,000	12,100,000
	0.8 min.	1,940,000	258,000	8,300
	4.3 min.	258,000	5,000	1,700
	8.9 min.	45,000	480	240
	13.8 min.	contam.	0	0
	18.8 min.	200	0	0
	23.8—33.8 min.	0	0	0
Broth suspension pH 3.65	Count per c.c.	4,800,000	5,000,000	4,800,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Gooseberry juice pH 2.85	Count per c.c.	290,000	300,000	300,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Raspberry juice pH 3.25	Count per c.c.	895,000	920,000	1,100,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Blackberry juice pH 3.10	Count per c.c.	1,100,000	1,220,000	1,000,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Tomato juice pH 4.2	Count per c.c.	2,300,000	2,300,000	2,300,000
	0.8 min.	515,000	8,120	50
	4.3 min.	630	40	0
	8.9 min.	100	0	0
	13.8 min.	20	0	0
	18.8—33.8 min.	0	0	0

Table 5. Salmonella enteritidis (Jordan 206).
0 indicates absence of colonies.

		55° C.	60° C.	65° C.
Broth suspension pH 7.05	Count per c.c.	6,500,000	7,400,000	6,800,000
	0.8 min.	2,610,000	840,000	3,400
	4.3 min.	312,000	5,000	200
	8.9 min.	102,000	720	150
	13.8 min.	12,600	100	60
	18.8 min.	1,000	40	0
	23.8 min.	280	0	0
	28.8 min.	120	0	0
	33.8 min.	70	0	0
Broth suspension pH 3.65	Count per c.c.	4,400,000	4,000,000	4,500,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Gooseberry juice pH 2.85	Count per c.c.	720,000	650,000	700,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Raspberry juice pH 3.25	Count per c.c.	3,000,000	2,900,000	2,950,000
	0.8 min.	10	0	0
	4.3—33.8 min.	0	0	0
Blackberry juice pH 3.10	Count per c.c.	1,560,000	1,564,000	1,600,000
	0.8—33.8 min.	0	0	0
Tomato juice pH 4.2	Count per c.c.	1,456,000	1,400,000	1,400,000
	0.8 min.	100,500	3,470	0
	4.3 min.	2,860	24	0
	8.9 min.	48	0	0
	13.8 min.	20	0	0
	18.8—33.8 min.	0	0	0

Quantitative results obtained for the six organisms tested are presented in Tables 1—6. Plate counts were made on the plates most suitable for counting. Each experiment was performed three times for confirmation before recording in the accompanying tables. Data obtained for organisms heated in broth suspension at 55° C. (131° F.) are also plotted as curves (Fig. 1—6). Logarithms of survivors are plotted against time measured in

Table 6. Staphylococcus aureus (U. of Chi. 42).
0 indicates absence of colonies.

		55° C.	60° C.	65° C.
Broth suspension pH 7.05	Count per c.c.	2,100,000	5,400,000	3,200,000
	0.8 min.	1,980,000	3,480,000	120,000
	4.3 min.	1,620,000	180,000	1,800
	8.9 min.	960,000	32,000	1,000
	13.8 min.	720,000	6,600	700
	18.8 min.	480,000	1,900	0
	23.8 min.	300,000	1,280	0
	28.8 min.	228,000	600	0
	33.8 min.	200,000	220	0
Broth suspension pH 3.65	Count per c.c.	5,400,000	8,600,000	9,600,000
	0.8 min.	7,800	1,800	800
	4.3 min.	30	0	0
	8.9—33.8 min.	0	0	0
Gooseberry juice pH 2.85	Count per c.c.	6,000,000	6,500,000	7,000,000
	0.8 min.	6,600	120	42
	4.3—33.8 min.	0	0	0
Raspberry juice pH 3.25	Count per c.c.	5,000,000	5,400,000	5,120,000
	0.8 min.	7,200	600	40
	4.3 min.	contam.	25	0
	8.9 min.	20	0	0
	13.8—33.8 min.	0	0	0
Blackberry juice pH 3.10	Count per c.c.	4,300,000	5,000,000	5,100,000
	0.8 min.	50,000	400	0
	4.3 min.	300	0	0
	13.8—33.8 min.	0	0	0
Tomato juice pH 4.2	Count per c.c.	3,750,000	3,750,000	3,750,000
	0.8 min.	1,115,000	180,000	14,500
	4.3 min.	504,000	740	100
	8.9 min.	183,000	60	0
	13.8 min.	19,600	0	0
	18.8 min.	2,100	0	0
	23.8 min.	350	0	0
	28.8, 33.8 min.	0	0	0

minutes. Since time was reckoned from the instant the tube was immersed in the oil bath until it was withdrawn, it is necessary to correct experimental death time to actual death time by subtracting time required for penetration of heat into the suspension.

Heat penetration tests were carried out in Pyrex culture tubes under the same conditions as the experiment; that is, the tube held stationary

and the bath agitated with a glass rod[1]). A glass-mounted, fine wire copper-constantan thermocouple, similar to thermocouples used at the N. C. A. laboratory, was used to determine heating rates. Water, tomato juice of light and heavy consistency and gooseberry juice were tested. The latter was chosen as being representative of a slow heating product, but it was

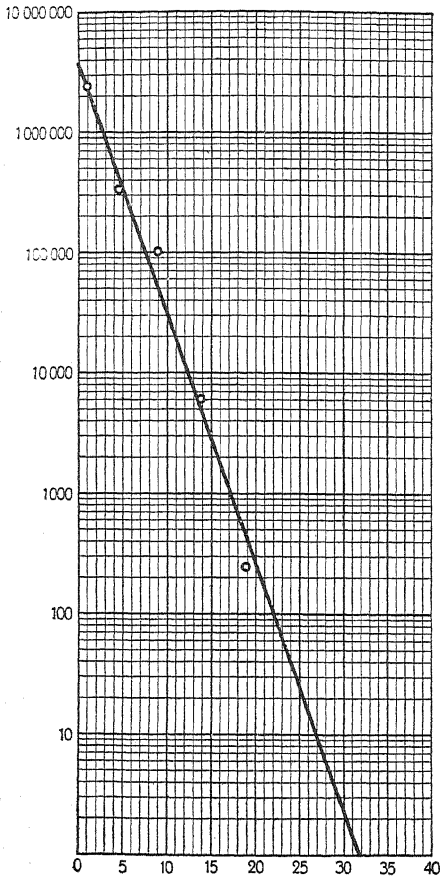



Fig. 1.

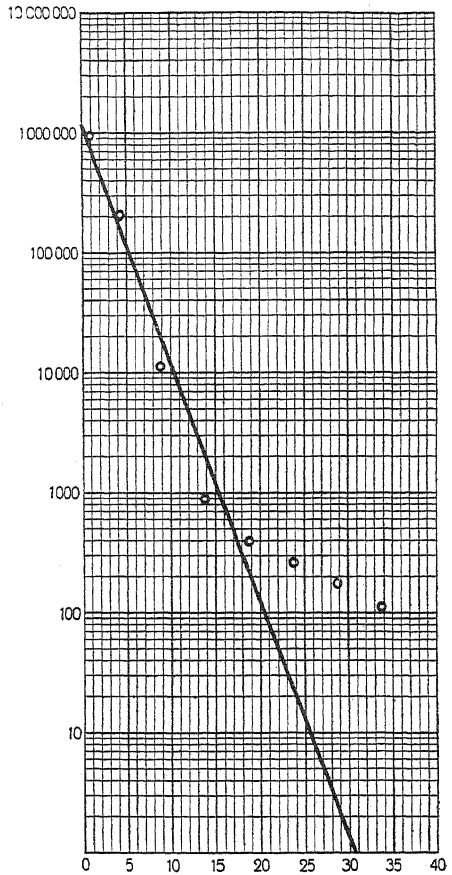



Fig. 2.

Fig. 1. *Eberthella typhosa* heated in broth, pH 7.05, at 55° C. (131° F.). Starting count 9,800,000 per c.c.

Fig. 2. *Salmonella paratyphi* heated in broth, pH 7.05, at 55° C. (131° F.). Starting count 9,300,000 per c.c.

found to heat almost as rapidly as water. To correct for lag in heat penetration, calculations were made expressing experimentally determined thermal death times in terms of equivalent minutes of actual thermal death time. Thus, experimental death times of 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40 minutes are plotted respectively as 0.8, 4.3, 8.9, 13.8, 18.8, 23.8, 28.8 and 33.8 minutes.

[1]) We are indebted to Mr. J. M. Jackson, Mr. H. A. Benjamin and Mr. D. J. Wessel for determination of heat penetration rate into the tubes which were used in this investigation.

If numbers of survivors are plotted against time on semilog paper, the points follow in general a straight line, thereby showing a logarithmic order of death in organisms tested.

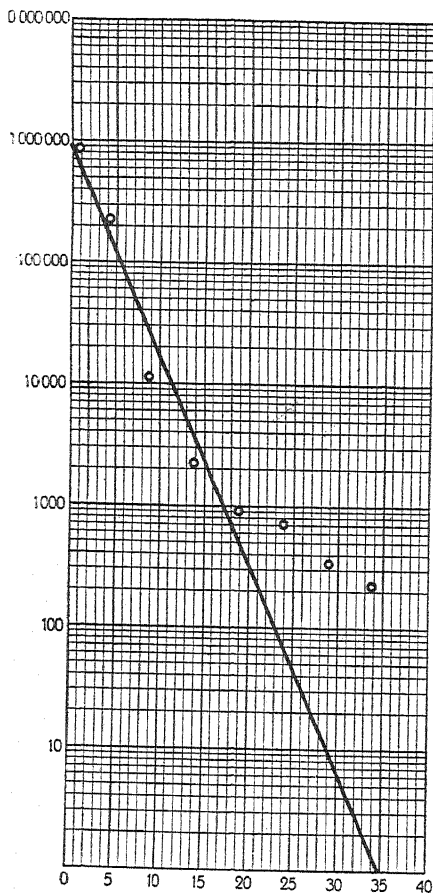



Fig. 3. Fig. 4.

Fig. 3. *Salmonella schottmuelleri* heated in broth, pH 7.05, at 55° C. (131° F.). Starting count 8,400,000 per c.c.

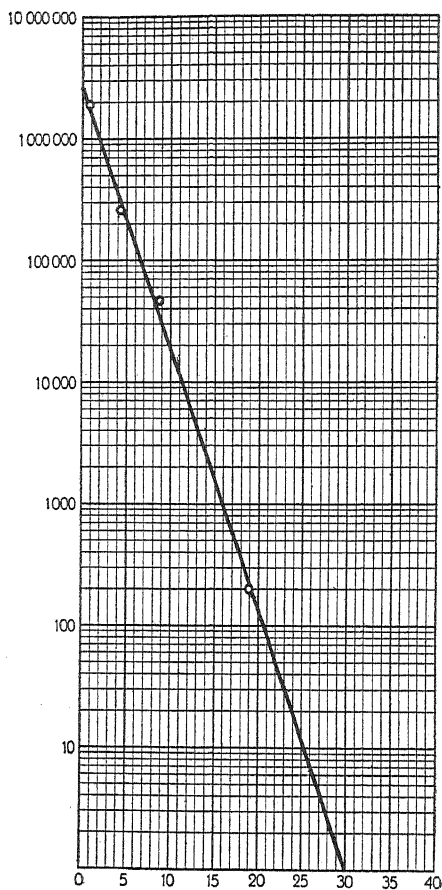



Fig. 4. *Salmonella aertrycke* heated in broth, pH 7.05, at 55° C. (131° F.). Starting count 9,700,000 per c.c.

In order to determine the straight line which would best fit plotted points, the following calculations were made:

(1) $\log y = \log a + x \log b$
(2) $\Sigma \log y = \Sigma \log a + \Sigma x \log b$
(3) $\Sigma x \log y = \Sigma x \log a + \Sigma x^2 \log b.$

Equations (2) and (3) were solved to obtain values for log a and log b, which were then substituted in equation (1) and various values of y were determined for arbitrarily chosen values of x.

In Fig. 2, 3 and 5, points plotted near the end of the experiment were not considered since they would exaggerate greatly the true course of the curve. In the latter instance, where a point was not calculated in the curve,

the percentage of survivors was less than 0.01 per cent of the starting count. Inclusion of these points would, of course, lend too great an emphasis to the few cells apparently resistant to heat. The relative unimportance of these few survivors may well be shown by plotting logarithms of percentage of survivors against time in minutes. If such minority points are considered in the curves, one is giving as much emphasis to a few cells, perhaps a thousand or so per c. c., as isgiven to the millions which are viable at the start. Thus, last portions of logarithmic curves become concave toward the point of origin whenever percentage of survivors approaches zero. For this reason, curves in Fig. 1—6 represent rate of death in 99.99 per cent of the original number of cells. "Wild points" obtained when the percentage of survivors was decreased nearly to zero are

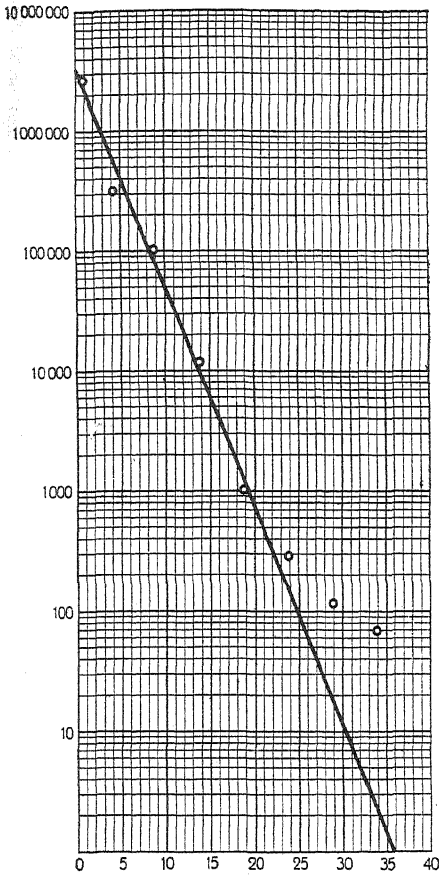



Fig. 5. Fig. 6.

Fig. 5. *Salmonella enteritidis* heated in broth, pH 7.05, at 55° C. (131° F.). Starting count 6,500,000 per c.c.

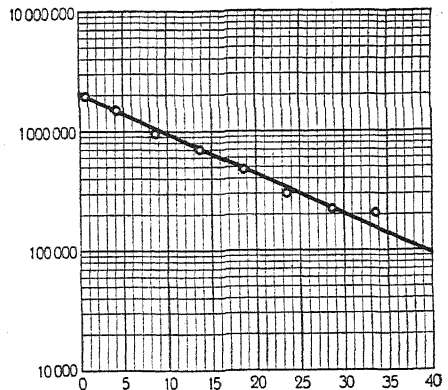



Fig. 6. *Staphylococcus aureus* heated in broth, pH 7.05, at 55° C. (131° F.). Starting count 2,100,000.

included for completeness but were not considered in calculating equations for death rates.

Examination of Fig. 1—6 reveals that members of the typhoid-paratyphoid group vary considerably in heat resistance but apparently die in accordance with the monomolecular law. *Eberthella typhosa* is less resistant to heat than are *Salmonella paratyphi*, *Salmonella schottmuelleri* and *Salmonella enteritidis*. This difference in heat resistance of members of the group tends to explain several conflicting data in literature pertaining to these organisms. Perhaps heat

resistance of various members is an inherent biological characteristic. Further explanation of this observation is beyond the scope of this paper.

Further work is being continued with these and other non-spore-bearing bacteria. Little can be said about destruction rates in fresh fruit juices. Apparently, the heat resistance of all the organisms tested is greatly reduced when they are suspended in acid media or acid fruit juices.

VII. Summary.

1. Absolute thermal death times were determined for various non-spore-forming organisms in broth of pH 7.05:

Eberthella typhosa:

9,800,000 cells per c.c.	23.8 minutes at 55° C. (131° F.)
7,600,000 cells per c.c.	8.9 minutes at 60° C. (140° F.)
9,600,000 cells per c.c.	4.3 minutes at 65° C. (149° F.)

Salmonella paratyphi:

11,900,000 cells per c.c.	8.9 minutes at 60° C. (140° F.)
9,000,000 cells per c.c.	4,3 minutes at 65° C. (149° F.)

Salmonella schottmuelleri:

10,000,000 cells per c.c.	18.8 minutes at 60° C. (140° F.)
8,800,000 cells per c.c.	13.8 minutes at 65° C. (149° F.)

Salmonella aertrycke:

9,700,000 cells per c.c.	23.8 minutes at 55° C. (131° F.)
10,200,000 cells per c.c.	13.8 minutes at 60° C. (140° F.)

Salmonella enteritidis:

7,400,000 cells per c.c.	23.8 minutes at 60° C. (140° F.)
6,800,000 cells per c.c.	13.8 minutes at 65° C. (149° F.)

Staphylococcus aureus:

3,200,000 cells per c.c.	18.8 minutes at 65° C. (149° F.)

2. Time required to kill these non-spore-forming organisms was greatly reduced when they were exposed to heat in broth of pH 3.65.

3. Heating at 60° C. (140° F.) for 8.9 minutes in acid fruit juices was sufficient to kill the above organisms, with the exception of Staphylococcus aureus, which required 18.8 minutes at 60° C. (140° F.) in tomato juice.

4. Order of death of non-spore-forming organisms studied is apparently logarithmic.

Bibliography.

Anderson, C. W., On the behavior of some pathogenic bacteria in presence of heat at 63° C. for ½ hour. (Maanedsskr. f. Dyrlaeger. Vol. 36. 1924. p. 177.) (Reviewed in Abst. of Bact. Vol. 9. 1925.) — Ayers, S. H., and Johnson, W. T., Ability of streptococci to survive pasteurization. (Journ. Agr. Res. Vol. 2. 1914. p. 321.) — Ayers, S. H., and Johnson, W. T., Ability of colon bacilli to survive pasteurization. (Journ. Agr. Res. Vol. 3. 1915. p. 401.) — Ayers, S. H., and Johnson, W. T., Studies on pasteurization. XI. The "majority" and "absolute" thermal death points of bacteria in relation to pasteurization. (Journ. Bact. Vol. 9. 1924. p. 279.) — Ball, C. O., Thermal process time for canned foods. (Bull. Nat. Res. Council. Vol. 7. 1922. p. 37.) — Ball, C. O., Mathematical solution of problems on thermal

processing of canned foods. (Univ. Calif. Publication Pub. Health. Vol. 1. 1928. p. 15.) — Baker, E. E., and McClung, L. S., A note on the determination of heat resistance of non-spore-forming bacteria. In press, Food Research. 1939. — Beavens, E. A., Escherichia-Aerobacter group as an index to proper pasteurization. (Journ. Dairy Science. Vol. 13. 1930. p. 94.) — Bigelow, W. D., The logarithmic nature of thermal death time curves. (Journ. Inf. Dis. Vol. 29. 1921. p. 528.) — Bigelow, W. D., and Esty, J. R., Thermal death point in relation to time of typical thermophilic organisms. (Journ. Inf. Dis. Vol. 27. 1920. p. 602.) — Burke, G. S., The effect of heat on spores of Bacillus botulinus: its bearing on home canning methods. (Journ. Amer. Med. Assn. Vol. 72. 1919. p. 88.) — Burke, V., Sprague, A., and Barnes, L., Dormancy in bacteria. (Journ. Inf. Dis. Vol. 36. 1925. p. 550.) — Clague, J. A., and Fellers, C. R., Time, Temperature and Humidity Relationships in the pasteurization of dates. (Arch. f. Mikrobiol. Vol. 4. 1933. p. 419.) — Davis, D. J., Hemolytic streptococci found in milk. (Journ. Inf. Dis. Vol. 19. 1916. p. 236.) — Dickson, E. C., Burke, G. S., Beck, D., and Johnston, J., Studies on the thermal death time of spores of Clostridium botulinum. IV. (Journ. Inf. Dis. Vol. 36. 1925. p. 472.) — Dickson, E. C., Burke, G. S., Beck, D., and Johnston, J., Kriegs, H., Studies on the thermal death point of spores of Clostridium botulinum. (Journ. Amer. Med. Assn. Vol. 79. 1922. p. 1239.) — Dickson, E. C., Burke, G. S., and Ward, E. S., Botulism: A study of resistance of spores of Bacillus butolinus in various sterilizing agencies which are commonly employed in the canning of fruits and vegetables. (Arch. Int. Med. Vol. 24. 1919. p. 581.) — Doorenbos, W., and Mulders, J., Effect of heat on dysentery organisms. (Review.) (Abst. Bact. Vol. 8. 1924. p. 276.) — Eijkmann, C., Die Überlebungskurve bei Abtötung von Bakterien durch Hitze. (Biochem. Zeit. Bd. 11. 1908. S. 12.) — Esty, J. R., The heat resistance of Bacillus botulinus spores. (Amer. Journ. Pub. Health. Vol. 13. 1923. p. 108.) — Esty, J. R., and Meyer, K. F., The heat resistance of the spores of B. botulinus and allied anaerobes. (Journ. Inf. Dis. Vol. 31. 1922. p. 650.) — Esty, J. R., and Williams, C. C., Heat Resistance. I. A new method for the determination of heat resistance of bacterial spores. (Journ. Inf. Dis. Vol. 34. 1924. p. 516.) — Frost, W. D., and Swenson, M. W., Note on thermal death point of B. dysenteriae Shiga. (Science. Vol. 23. 1906. p. 216.) — Gage, S. D., and Stoughton, G. V., A study of the laws governing the resistance of Bacterium coli to heat. (Science. Vol. 23. 1906. p. 216.) — Geiger, J. C., and Kelly, F. L., Report of typhoid fever outbreak due to raw milk. (Journ. Amer. Med. Assn. Vol. 66. 1916. p. 263.) — Graham, V. E., Destruction of pure cultures of Escherichia coli group in pasteurization. (Can. Pub. Health Journ. Vol. 27. 1936. p. 81.) — Hastings, E. G., Fred, E. B., and Carroll, W. R., Measurement of the heat resistance of bacteria. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 67. 1926. S. 162.) — Heiberg, B., Die Thermoresistenz der jungen und alten Bakterien und „jungen" und „alten" Bakteriophagen. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 114. 1933. S. 425.) — Henneberg, W., and Wendt, H., Heat resistant coliform strains in milk. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 93. 1935. S. 39.) — Huckel, R., Über die Abhängigkeit der Hitzeresistenz verschiedener Bakteriensuspensionen von ihrer Dichte. (Zentralbl. f. Hyg. Bd. 106. 1926. S. 730.) — Jones, Osman, Thermal behavior of microorganisms. (Food. Vol. 6. 1937. p. 300.) — Knaysi, G., Do bacteria die logarithmically? (Journ. Inf. Dis. Vol. 47. 1930. p. 322.) — Knaysi, G., Manner of death of certain bacteria and yeasts when subjected to mild chemical and physical agents. (Journ. Inf. Dis. Vol. 47. 1930. p. 303.) — Krumwiede, C., and Noble, W. C., On the claim that some typhoid-paratyphoid strains survive the milk pasteurization. (Journ. Inf. Dis. Vol. 29. 1921. p. 310.) — Lang, O. W., and Dean, S. J., Heat resistance of Clostridium botulinum in canned sea foods. (Journ. Inf. Dis. Vol. 55. 1934. p. 39.) — Laubach, C. A., Rice, J. L., and Ford, W. W., Studies on aerobic spore-bearing non-pathogenic bacteria. (Journ. Bact. Vol. 1. 1916. p. 493.) — Lawrence, J. S., and Ford, W. W., Studies on aerobic spore-bearing non-pathogenic bacteria. (Journ. Bact. Vol. 1. 1916. p. 273.) — Magoon, C. A., Studies upon bacterial spores. 1. Thermal Resistance as affected by age and environment. (Journ. Bact. Vol. 11. 1926. p. 253.) — Magoon, C. A., Studies upon bacterial spores. 2. Increasing resistance to heat through selection. (Journ. Inf. Dis. Vol. 38. 1926. p. 429.) — Myers, R. P., Effect of hydroxyl ion concentration on the thermal death rate of Bacterium coli. (Journ. Bact. Vol. 15. 1928. p. 341.) — Myers, R. P., and Sorensen, C. M., Escherichia-Aerobacter group in ice-cream. Determination from laboratory standpoint. (Proc. 36th Cong. Int. Assn.

Ice Cream Mnfrs. Vol. 2. 1936.) — North, C. W., and Park, W. H., Standards for milk pasteurization. (Amer. Journ. Hyg. Vol. 7. 1927. p. 147.) — Oerskov, S. L., Recherches sur la thermo resistance. Thermo résistance dans divers milieux de culture; thermo résistance selon l'age des cultures. (Review.) (Bull. Inst. Pasteur. T. 23. 1925. p. 965.) — Oldenbusch, C., Frobischer, M., and Shrader, J. H., Thermal death points of pathogenic bacteria in cream and ice cream. (Amer. Journ. Pub. Health. Vol. 20. 1930. p. 615.) — Park, W. H., The thermal death points of pathogenic bacteria in milk. (Amer. Journ. Pub. Health. Vol. 17. 1927. p. 36.) — Park, W. H., Thermal death point of pathogenic streptococci at 30 minutes exposure. (Amer. Journ. Pub. Heath. Vol. 18. 1928. p. 710.) — Prucha, M. J., Effect of temperature on bacterial flora of milk. (Amer. Journ. Pub. Health. Vol. 17. 1927. p. 356.) — Rahn, O., The size of bacteria as the cause of the logarithmic order of death. (Journ. Gen. Physiol. Vol. 13. 1929. p. 179.) — Rahn, O., The non-logarithmic order of death of some bacteria. (Journ. Gen. Physiol. Vol. 13. 1930. p. 395.) — Rosenau, M. J., The thermal death points of pathogenic microorganisms in milk. (U. S. P. H. Service, Hyg. Lab. Bull. 42. 1908.) — Rosenau, M. J., Thermal death points of pathogenic microorganisms in milk. (U. S. P. H. Service, Hyg. Lab. Bull. 56. 1912. p. 681.) — Sattler, Wilhelm, Untersuchungen über die Absterbegeschwindigkeit, die Wärmebeschleunigung und den Resistenzwechselpunkt einiger für den Molkereibetrieb wichtiger Bakterien unter verschiedenen Bedingungen und ihr Verhalten bei den Pasteurisierungstemperaturen und bei raschem Temperaturwechsel. (Milchwirtsch. Forsch. Bd. 7. 1928. S. 100.) — Schereschewsky, J. W., Pasteurization of milk. Infant feeding. (U. S. P. H. Service, Hyg. Lab. Bull. 56. 1912. p. 689.) — Shippen, L. P., The significance of Bact. coli in pasteurized milk. (Journ. Amer. Med. Assn. Vol. 64. 1915. p. 1289.) — Sommer, E. W., Heat resistance of the spores of Clostridium botulinum. (Journ. Inf. Dis. Vol. 46. 1930. p. 85.) — Spiegelberg, C. H., Spoilage in canned pineapple. III. Classification of spoilage and spoilage organisms. (Pineapple Quarterly. Vol. 5. 1935. p. 61.) — Sternberg, Manual of Bacteriology. William Wood and Co. 1893. p. 147. — Tanner, F. W., and McCrea, F. D., Clostridium botulinum. IV. Resistance of spores to moist heat. (Journ. Bact. Vol. 8. 1923. p. 269.) — Tanner, F. W., and Windsor, M. F., The ability of Escherichia coli and Serratia marcescens to survive 62.8° C. for 30 minutes in milk. (Journ. Dairy Science. Vol. 12. 1929. p. 202.) — Townsend, C. T., Esty, J. R., and Baselt, F. C., Heat resistance studies on spores of putrefactive anaerobes in relation to determination of safe processes for canned foods. (Food Research. Vol. 3. 1938. p. 323.) — Twiss, E. M., Effect of pasteurizing temperature on the paratyphoid group. (Journ. Inf. Dis. Vol. 26. 1920. p. 165.) — Van der Sluis, Y., Effect of heat on the tubercle bacillus. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 50. 1909. S. 378.) — Viljoen, J. A., Heat resistance studies. 2. The protective effect of NaCl on bacterial spores heated in pea liquor. (Journ. Inf. Dis. Vol. 39. 1926. p. 286.) — Watkins, J. H., and Winslow, C. E. A., Factors determining the rate of mortality of bacteria exposed to alkalinity and heat. (Journ. Bact. Vol. 24. 1932. p. 243.) — Weiss, H., The Thermal death point of the spores of Bacillus botulinus in canned foods. (Journ. Inf. Dis. Vol. 29. 1921. p. 362.) — Williams, C. C., and Merrill, C. M., Heat resistance stuides. (The Canner. Vol. 84. 1937. No. 12, part 2, p. 71.) — Williams, C. C., Merrill, C. M., and Cameron, E. J., Apparatus for determination of spore destruction rates. (Food Research. Vol. 2. 1937. p. 369.) — Williams, Fred T., Attempts to increase the heat resistance of bacterial spores. (Journ. Bact. Vol. 32. 1936. p. 589.) — Williams, O. B., Heat resistance of bacterial spores. (Journ. Inf. Dis. Vol. 44. 1929. p. 421.)

Untersuchung über die Wirkung des Kupfers auf die Mikroorganismen des Bodens und über die Aufnahme von Kupfer durch die höhere Pflanze[1].

[Aus dem Botanisch-Mikrobiologischen Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe.]

Von **A. Eßwein** und **W. Schwartz.**

Mit 3 Abbildungen im Text.

I. Einleitung.

Die Untersuchungen der letzten Jahre haben den Nachweis erbracht, daß Kupfer für viele Pilze und höhere Pflanzen ein unentbehrliches Spurenelement ist, dessen Fehlen bestimmte Mangelsymptome, oder eine allgemeine Schwächung des Wachstums hervorruft. So wird z. B. bei Aspergillus niger die Ausbildung des dunklen Konidienfarbstoffes, der selbst kupferfrei ist, gestört, und die Erntegewichte bleiben hinter den Kontrollen zurück. Bei höheren Pflanzen scheint sich der Kupfermangel in einer allgemeinen Wachstumsstörung und verminderten Resistenz gegenüber parasitären Erkrankungen zu äußern [Rademacher (1936), van Gennep (1936) usw.]

Andererseits darf nicht vergessen werden, daß größere Kupfermengen als Gift wirken. Unter diesem Gesichtspunkt müssen wir uns fragen, wie sich die Verwendung des Kupfers im Pflanzenschutz auswirkt. Besonders im Weinbau werden ja dem Boden jahraus, jahrein mit kupferhaltigen Spritzmitteln erhebliche Mengen von Kupfer zugeführt.

Wie verhält sich das Kupfer im Boden, wie wird die Lebenstätigkeit der Bodenorganismen durch die Zuführung von Kupfer beeinflußt, wie verhalten sich schließlich die Wurzeln der höheren Pflanzen dem Kupfer gegenüber; in welchen Mengen wird es von den Wurzeln aufgenommen, erfolgt eine Leitung in die oberirdischen Teile? Die folgenden Untersuchungen wollen zur Beantwortung dieser Fragen einen Beitrag liefern.

II. Allgemeine Bemerkungen zur Methodik.

Die Kupferbestimmung erfolgte nach der von Schwartz und Steinhart (1931) beschriebenen mikrokolorimetrischen Methode mit α-Nitroso-β-Naphthol als Reagens, die ursprünglich für die Bestimmung des Kupfers im Pilzmyzel und in einfach zusammengesetzten Nährlösungen ausgearbeitet worden war. Da auch andere Metalle mit dem Reagens gefärbte Komplexverbindungen eingehen, deren Anwesenheit bei der kolorimetrischen Bestimmung des Kupfers Fehler verursachen könnte, mußte das Kupfer aus dem Versuchsmaterial (Erde, Pflanzenteile) nach entsprechender Vorbehandlung zunächst auf elektrolytischem Wege abgeschieden werden.

Wir benutzten destilliertes Wasser, das aus einem Glasapparat dreimal umdestilliert worden war. Die zur Durchführung der Kupferbestimmung erforderlichen Chemikalien wurden auf ihren Kupfergehalt kontrolliert.

Aus je 10 g der sorgfältig durchgemischten und bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Bodenproben trennten wir das Kupfer nach vorhergegangenem, etwa 2stünd. Ausglühen der Proben bei 5—600° C in einer Porzellanschale durch wiederholtes Ausziehen mit verdünnter wäßriger Schwefelsäure auf dem Wasserbad ab.

[1]) Ausgeführt mit Unterstützung der Karlsruher Hochschulvereinigung.

Blätter und andere Pflanzenteile wurden nach dem Trocknen in der üblichen Weise verascht und wie die ausgeglühten Bodenproben weiterbehandelt.

Zur elektrolytischen Abscheidung des Kupfers wurden die schwefelsauren Auszüge zunächst auf etwa 20 ccm eingeengt und dann in kleinen zylindrischen Glasgefäßen mit Platin-Netzelektrode (Abb. 1) bei 2 Volt Spannung unter Luftrührung der Elektrolyse unterworfen.

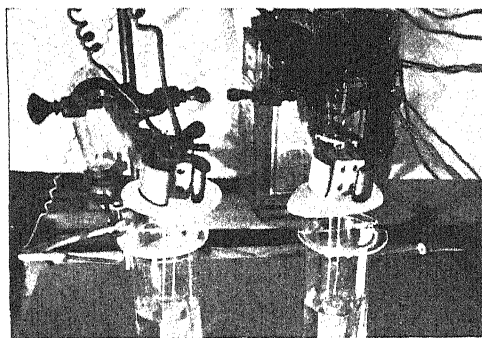



Abb. 1. Elektrolysegefäß mit Elektroden.

Da die schwefelsauren Auszüge auch Zink und Eisen enthalten, von denen sich Spuren neben dem Kupfer niederschlagen, haben wir durch eine Ablösung des Kupfers und eine zweite elektrolytische Abscheidung in folgender Weise eine Reinigung vorgenommen: Die Elektrode wurde bei geschlossenem Strom herausgenommen und in das mit 1 : 10 verdünnter Schwefelsäure gefüllte Elektrolysengefäß zurückgebracht. Nachdem durch Wenden des Stromes das Kupfer wieder abgelöst war, erfolgte die zweite Abscheidung an der Netzelektrode als Kathode durch erneute 12stünd. Elektrolyse, die gegen Ende durch Erwärmen des Elektrolysegefäßes auf 30—35° C beschleunigt und quantitativ durchgeführt wurde. Die Ablösung des Kupfers von der vorher mit destilliertem Wasser abgespülten Elektrode erfolgte mit 20 ccm HNO_3 (1 Teil auf 1,5 Teile Wasser) in der Wärme. Die salpetersaure Lösung wurde in einem Maßkolben mit NH_4OH genau neutralisiert, und zur Marke aufgefüllt. Ein aliquoter Teil der neutralisierten Lösung diente zur kolorimetrischen Bestimmung des Kupfers.

Da sich gezeigt hatte, daß durch Neutralsalze (NH_4NO_3) der Farbton der Kupferkomplexverbindung beeinflußt wird, mußten die kolorimetrischen Vergleichslösungen mit bekanntem Kupfergehalt auf gleichen Neutralsalzgehalt gebracht werden. Wir benutzten dasselbe Mikrokolorimeter der Firma Hellige in Freiburg, das auch zu den früheren Untersuchungen gedient hatte.

Für Spritz- und Gießversuche diente im allgemeinen eine 1proz., schwach alkalisch reagierende Bordeauxbrühe, die nach der im Pflanzenschutz üblichen Vorschrift [vgl. z. B. Riehm (1931)] durch Eingießen der Kupfersulfatlösung in Kalkmilch hergestellt wurde. Der Kupfergehalt dieser Lösung beträgt etwa 0,25% Cu.

Die Entnahme der Bodenproben für die chemische und mikrobiologische Untersuchung erfolgte nach Abtragen der obersten Bodenschicht aus einer Tiefe von etwa 3—4 cm in der bereits bei Schwartz und Müller (1931) beschriebenen Weise.

III. Verhalten des Kupfers im Boden.

In einem 27 Jahre alten Rebgelände der Rebveredelungsanstalt Durlach fanden wir 3285 γ Cu/10 g Erde (= 0,03% Cu) und in gewöhnlicher Gartenerde 50,06 γ/10 g (= 0,0005% Cu).

Nach Tschirch (1893) wird beim Filtrieren einer Kupfersulfatlösung durch eine Bodenschicht das Kupfer im Boden adsorbiert. Um zu ermitteln, in welchem Ausmaß das Kupfer allmählich in die tieferen Bodenschichten ausgewaschen wird, stellten wir in Mitscherlich-Gefäßen mit Gartenerde den Kupfergehalt in verschiedenen Tiefen fest, nachdem auf die Bodenoberfläche in feiner Verteilung 100 ccm einer 4proz. Kupfersulfatlösung aufgespritzt worden waren. Vor Zusatz der Kupferlösung lag der Kupfergehalt der Erde bei 0,0398 mg/10 g. Die Erde wurde täglich mit etwa 100 ccm dest. Wasser gegossen. Nach 10 Tagen erhielten wir bei der Analyse der einzelnen Bodenschichten folgende Werte, bezogen auf 10 g trockene Erde:

Probe der Erde vor der Kupferung:

I. 40,95 γ = 0,0409 mg } in je 10 g trockener Garten-
II. 38,85 γ = 0,0388 mg } erde = 0,0398 mg

Sickerversuch (jeweils 10 g Erde).

a) Schicht 1—2 cm
I. 1755 γ = 1,75 mg } 1,75 mg
II. 1757 γ = 1,75 mg }

b) Schicht 2—4 cm
I. 1025 γ = 1,025 mg } 1,044 mg
II. 1063 γ = 1,063 mg }

c) Schicht 4—6 cm
I. 809,8 γ = 0,809 mg } 0,815 mg
II. 821,6 γ = 0,821 mg }

d) Schicht 6—8 cm
I. 542,6 γ = 0,542 mg } 0,546 mg
II. 550,6 γ = 0,550 mg }

e) Schicht 8—10 cm
I. 400 γ = 0,400 mg } 0,399 mg
II. 398,8 γ = 0,398 mg }

f) Schicht 10—12 cm
I. 322,4 γ = 0,322 mg } 0,301 mg
II. 281,1 γ = 0,281 mg }

Nach 10 Tagen war in einer Tiefe von 10—12 cm der Kupfergehalt etwa auf das 8fache des normalen Wertes gestiegen. Es ist also durchaus möglich, daß bei Zufuhr größerer Kupfermengen zum Boden der Kupfergehalt allmählich auch im Bereich der tiefer in den Boden eindringenden Wurzeln ansteigt[1]).

Wie hoch der Kupfergehalt bei regelmäßiger jährlicher Zufuhr von Kupfer auch in tieferen Bodenschichten werden kann, geht aus einer Untersuchung des bereits erwähnten Durlacher Rebgeländes hervor, wo sich im Juli 1937 in einer Tiefe von 50 cm noch 901 γ/10 g Erde nachweisen ließen (Tab. 1).

Tab. 1. Kupfergehalt von Weinbergserde (Durlach).

Bodenschicht	γ Cu in 10 g Erde
Oberfläche	3285
10 cm Tiefe	2940
20 cm Tiefe	2716
30 cm Tiefe	2218
40 cm Tiefe	1265
50 cm Tiefe	901

Die Verhältnisse in den Oberflächenschichten prüften wir in Freilandparzellen, auf denen nach Entfernung der obersten Bodenlage in etwa 3–4 cm Tiefe der Kupfergehalt während 20 Tagen durch wiederholte Bestimmungen kontrolliert wurde. Bei einer Kupferzufuhr von 1 g/qm ergab sich, daß in den ersten Tagen eine starke Abnahme des Kupfergehalts erfolgt, und daß der Kupferspiegel

Abb. 2. Kupfergehalt der Oberflächenschichten des Bodens nach Zuführung von 1 g Cu/qm Bodenfläche.

[1]) Rebwurzeln erreichen Tiefen von etwa 1,5—2 m.

12—14 Tage nach dem Gießen, sowohl bei Verwendung von Bordeauxbrühe wie von Kupfersulfat, etwa auf die Hälfte der bei Versuchsbeginn vorhandenen Differenz gegenüber dem Kupfergehalt der Kontrollparzelle gesunken ist (Abb. 2). Zwischen dem 2. und 6. Tag beginnt eine Verflachung der Kurven: die Kurven nähern sich allmählich dem Kontrollwert. Noch nach 20 Tagen beträgt aber der Kupfergehalt ein Mehrfaches dieses Kontrollwertes. Bei Verwendung von Bordeauxbrühe wird ein größerer Teil des Kupfers nach dem Gießen in den obersten Bodenschichten festgehalten. Die prozentuale Abnahme (bezogen auf den Kupfergehalt am 1. Tag) ist zunächst bei Kupfersulfat, dann bei Bordeauxbrühe höher; vom 12. Tage ab sind keine nennenswerten Unterschiede mehr vorhanden.

IV. Einfluß des Kupfers auf die Mikroorganismen des Bodens.

Als Maßstab diente zunächst der Keimgehalt des gekupferten Bodens, verglichen mit dem Wert der Kontrollparzelle. Die Bestimmung des Keimgehalts erstreckte sich auf die heterotrophen, aeroben Bakterien, auf Azotobakter und auf die Ermittlung des Algentiters.

Die Einbeziehung der Algen erschien uns wichtig mit Rücksicht auf die Bedeutung, die heute von vielen Forschern den Algen für die biologischen Vorgänge im Boden zugelegt wird.

Heterotrophe Aerobier und Azotobacter[1]) wurden nach entsprechender Verdünnung nach der Plattenzählmethode auf je 6—7 Parallelplatten bestimmt. Als Nährsubstrat diente für die Heterotrophen Dextrin-Eiweiß-Agar, für Azotobakter Mannit-Agar. Zur Auswertung dienten die Mittelwerte von je 5 gleichmäßig bewachsenen, ausgezählten Platten. Durch sorgfältiges Arbeiten, besonders bei der Herstellung der Bodenaufschwemmung, läßt sich erreichen, daß die Streuung zwischen Parallelplatten verhältnismäßig niedrig ist (Tab. 2).

Tab. 2. Beispiel für die Ermittlung des Keimgehalts der Bodenproben.

Bodenprobe	Nährboden	Faktor pro g Erde	Ausgezählte		Berechnete Keime		Mittelwert in Mill./g Boden
			qm	Keime	je Petrischale	in Mill./g Boden	
Versuch Nr. 2 Parzelle II Bordeauxbrühe, bei Versuchsbeginn	Dextrin-Agar	40 000	12	25	133	5,320	6,184
			12	34	181	7,240	
			12	30	160	6,400	
			12	27	144	5,760	
			12	29	155	6,200	
Versuch Nr. 2 Parzelle II Bordeauxbrühe, bei Versuchsbeginn	Mannit-Agar	4000	12	65	347	1,388	1,459
			12	71	379	1,516	
			12	66	352	1,408	
			12	64	341	1,364	
			12	76	405	1,620	

Algentiter. Zur Herstellung der Bodenverdünnungen diente eine Nährlösung folgender Zusammensetzung [Feher (1933)]:

K_2HPO_4	1,0 g
$NaNO_3$	1,0 g
$MgSO_4$ 7 H_2O	0,3 g
$CaCl_2$	0,1 g
NaCl	0,1 g
$FeCl_3$	0,01 g
dest. Wasser (metallfrei)	2000,0 ccm

[1]) Vgl. die ausführlichen Angaben bei Schwartz und Müller (1931).

Mit 100 ccm dieser Nährlösung wurden 10 g einer Durchschnittsbodenprobe während 30 Min. in der Schüttelmaschine geschüttelt. Ausgehend von der Titerlösung 1 : 10 stellten wir Verdünnungen bis 1 : 655 360 her, wobei jede Verdünnung nochmals 15 Min. geschüttelt wurde. Die Kultur der Algen erfolgte an einem nach Norden gelegenen Fenster in Reagenzröhrchen mit je 15 g gewaschenem sterilen Quarzsand, der mit je 5 ccm der einzelnen Titerstufen getränkt war. Jede Titerstufe war durch 3 Parallelröhrchen vertreten; in jeder Versuchsreihe liefen außerdem 3 Blindversuche mit steriler Nährlösung mit. Während einer Versuchsdauer von 5 Wochen wurde festgestellt, wann in den einzelnen Röhrchen ein mit bloßem Auge sichtbares Algenwachstum auftrat.

Wir prüften die Einwirkung des Kupfers auf die genannten Bodenorganismen auf Gartenland-Parzellen[1]) von je 1 qm, von denen in jeder Versuchsreihe eine als Kontrolle diente und mit Wasser ohne Kupferzusatz, eine mit Bordeauxbrühe und eine mit Kupfersulfatlösung gegossen wurde. Auf den Quadratmeter kamen bei Versuchsbeginn 1 g oder 0,5 g Kupfer. Um eine größere Flüssigkeitsmenge zu erhalten, verdünnten wir die Kupferlösungen so weit, daß für jede Parzelle 2 l Gießflüssigkeit zur Verfügung standen.

Die heterotrophen Bakterien und Azotobakter zeigten fast ausnahmslos in 4 in den Monaten Juni bis Oktober durchgeführten Versuchsreihen während der ersten Tage einen deutlichen absoluten oder relativen Rückgang, verglichen mit den Kontrollwerten der nicht gekupferten Parzelle (Tab. 3 a, b). Unter unregelmäßigen, nicht reproduzierbaren Schwankungen erfolgt eine allmähliche Erhöhung, bis nach 20 Tagen die Unterschiede annähernd ausgeglichen sind, und die Werte für die 3 Parzellen eines Versuchs, unter Berücksichtigung der Fehlergrenzen, wieder zusammenfallen. Nur in einem Fall (Reihe 4, Kupfersulfat) lag bei Azotobakter der Endwert deutlich höher.

Weinbergserde (Durlach) hatte im Juli 1938 einen Azotobaktergehalt von 0,59 Millionen/g, einen Gehalt an Heterotrophen von 2,3 Millionen/g.

Bei den Bodenalgen war dagegen die Kupferwirkung nach 20 Versuchstagen noch nicht abgeklungen (Tab. 4). Gegenüber einem Grenztiter von rund 1: 160 000 bei der Kontrolle, hatte die mit Bordeauxbrühe gegossene Parzelle nach Ablauf dieser Zeit einen Grenztiter von etwa 1: 10 000. Bei der Kupfersulfatparzelle lag der Grenztiter nach 12 Tagen ebenfalls bei 1: 10 000. Nach 20 Tagen deutete ein Anstieg auf etwa 1: 40 000 auf eine beginnende Erholung hin.

Vergleicht man die kürzesten und längsten Zeiten, die bis zum Erscheinen des Algenwachstums erforderlich sind, so ergibt sich, daß die Latenzzeit bei den einzelnen Verdünnungen unter periodischen Schwankungen mit zunehmender Versuchsdauer länger wird. Hierin kommen vielleicht mikroklimatische Faktoren zum Ausdruck, denen die 3 Parzellen in gleicher Weise unterlagen. Außerdem zeigt sich fast überall, daß bei den ersten vier Verdünnungsstufen die Verlängerung der Latenzzeiten relativ (d. h. in Beziehung zur kürzesten, bei der betreffenden Verdünnung aufgetretenen Latenzzeit) und absolut genommen bei den gekupferten Parzellen, besonders bei Parzelle B, größer ist als bei der Kontrolle. Hieraus geht hervor, daß sich die Schädigung der Algen nicht nur auf die Verminderung ihrer Zahl, sondern auch auf eine Schwächung der überlebenden Individuen erstreckt.

Ein Versuch mit Weinbergserde ergab etwa dieselben Latenzzeiten wie im vorliegenden Fall (Tab. 4) in der Spalte „vor Versuchsbeginn“. Der Grenztiter lag bei rund 1: 160 000.

---

[1]) Gartenland, das etwa 8 Tage vor Versuchsbeginn umgegraben war; z. T. auch Rasenflächen, bei denen die Grasnarbe abgehoben und der darunterliegende Boden umgegraben worden war.

Tab. 3a. Heterotrophe Bodenbakterien.
Mittelwerte aus 4 Versuchsreihen in Millionen Keimen je Gramm Boden.
Kupfergehalt: 1 g/qm bei Reihe 1, 3, 4; 0,5 g/qm bei Reihe 2.

Keimgehalt je Gramm Boden	Versuchszeit											
	Kontrolle				Bordeauxbrühe				Kupfersulfatlösung			
	1 19. 6./9. 7.	2 15. 7./4. 8.	3 29. 8./18. 9.	4 5. 10./25. 10.	1 19. 6.	2 15. 7.	3 29. 8.	4 5. 10.	1 19. 6.	2 15. 7.	3 29. 8.	4 5. 10.
Bei Versuchsbeginn . .	5,7	6,3	6,6	3,2	5,2	6,2	7,1	2,2	4,6	6,0	7,5	1,7
1. Tag	4,6	7,8	8,1	3,9	2,3	5,3	6,4	1,9	2,9	5,2	7,1	1,5
2. Tag	3,9	5,9	8,4	3,8	2,0	5,2	7,0	1,6	2,4	5,1	6,5	1,3
6. Tag	5,5	6,8	7,8	2,8	6,1	5,4	7,3	2,6	5,9	4,8	5,6	1,4
12. Tag	5,1	7,9	7,6	1,7	5,0	6,5	7,0	2,0	4,8	7,8	8,1	3,6
20. Tag	6,5	8,0	6,0	2,1	5,8	7,2	5,6	1,9	5,7	7,4	6,6	2,6

Tab. 3b. Azotobacter.
Mittelwerte aus 4 Versuchsreihen in Millionen Keimen je Gramm Boden.
Kupfergehalt: 1 g/qm bei Reihe 1, 3, 4; 0,5 g/qm bei Reihe 2.

Keimgehalt je Gramm Boden	Versuchszeit											
	Kontrolle				Bordeauxbrühe				Kupfersulfatlösung			
	1 19. 6./9. 7.	2 15. 7./4. 8.	3 29. 8./18. 9.	4 5. 10./25. 10.	1 19. 6.	2 15. 7.	3 29. 8.	4 5. 10.	1 19. 6.	2 15. 7.	3 29. 8.	4 5. 10.
Bei Versuchsbeginn . .	1,1	1,6	1,5	2,1	1,2	1,5	1,9	1,9	0,99	1,4	1,8	1,7
1. Tag	0,84	1,8	2,3	1,9	0,34	1,6	1,5	1,4	0,35	1,6	1,3	1,2
2. Tag	0,97	1,7	2,3	1,0	0,37	1,4	1,4	1,4	0,36	1,5	1,6	1,2
6. Tag	0,74	1,9	2,1	1,8	0,77	2,0	1,5	1,5	0,78	1,9	2,1	1,2
12. Tag	0,91	2,1	1,8	1,4	0,69	2,0	1,8	1,0	0,74	1,9	1,5	4,3
20. Tag	1,1	2,1	1,3	1,4	1,1	2,0	1,5	1,3	1,1	2,0	1,6	2,2

Tab. 4. Verhalten der Bodenalgen in ungekupferten und gekupferten Parzellen. Die Ziffern bedeuten die Tage, an denen das Algenwachstum erstmalig mit bloßem Auge zu erkennen war.

Parzelle	Verdünnung	Probenahme					
		vor Versuchsbeginn	1. Tag	2. Tag	6. Tag	12. Tag	20. Tag
A (Kontrolle)	1 : 160	10	10	17	23	18	20
	1 : 640	10	12	18	19	16	25
	1 : 2 560	12	16	21	24	17	24
	1 : 10 240	11	22	24	22	24	27
	1 : 40 960	15	25	27	29	22	32
	1 : 163 840	18	32	33	35	25	36
	1 : 655 360	27	34	—	—	—	—
B (Bordeaux-brühe)	1 : 160	10	11	19	34	19	19
	1 : 640	11	12	18	20	22	23
	1 : 2 560	10	12	22	28	24	28
	1 : 10 240	12	13	34	29	28	33
	1 : 40 960	12	24	—	—	—	—
	1 : 163 840	16	40	—	—	—	—
	1 : 655 360	24	—	—	—	—	—
C (Kupfer-sulfatlösung)	1 : 160	12	12	20	16	24	24
	1 : 640	10	10	18	29	30	22
	1 : 2 560	12	12	24	23	22	27
	1 : 10 240	15	13	26	29	36	31
	1 : 40 960	14	23	—	—	—	35
	1 : 163 840	17	—	—	—	—	—
	1 : 655 360	22	—	—	—	—	—

Da durch Kulturversuche immer nur ein Teil der Bodenorganismen erfaßt wird, und da die Keimzahlen nur ein Ausdruck der statischen Verhältnisse im Boden sind, haben wir die Keimzahlbestimmungen durch eine Bestimmung der im Boden gebildeten Kohlensäure als Maßstab für die Lebenstätigkeit der Bodenorganismen ergänzt. Da die Veränderungen der natürlichen Verhältnisse im Boden, die allein schon durch das Einfüllen der Erde in die Versuchsgefäße und die abweichende Durchlüftung hervorgerufen werden, auch bei dem Kontrollgefäß wirksam sind, dürfen Unterschiede in der Kohlensäureproduktion auf den Einfluß der Kupferung zurückgeführt werden.

Für die Bestimmung der Kohlensäureproduktion standen die von Stocklasa (1905), van Suchtelen (1910), Karnahl (1931) und Stapp u. Bucksteeg (1937) benutzten Methoden zur Verfügung, die wir in einigen Punkten abänderten.

Abb. 3. Versuchsapparatur zur Bestimmung der Bodenkohlensäure.

Als Aufnahmegefäß für die Erdproben dienten 1000 ccm

Steilbrustflaschen, die auf einer etwa 5 cm hohen Unterlage von gereinigtem Kies je 1 kg Gartenerde enthielten (Abb. 3). Für den Kontrollversuch war die Erde vor dem Einfüllen mit 65 g dest. Wasser, für die beiden Versuchsgefäße mit 65 g einer 2proz. Bordeauxbrühe bzw. einer 2proz. Kupfersulfatlösung angefeuchtet worden. Die Kupferkonzentration der Erde entsprach etwa den höchsten in Weinbergserde ermittelten Gehalten.

Vor jedes Versuchsgefäß waren 2 Waschflaschen geschaltet, von denen die erste, mit erbsengroßen Stücken von Natronkalk beschickte, zur Absorption der Luftkohlensäure, die zweite mit klarer Bariumhydroxydlösung, zur Kontrolle der durchgeleiteten Luft diente. Mit einer Wasserstrahlpumpe wurde die Luft in langsamem Blasenstrom durch die parallel geschalteten Apparaturen hindurchgesaugt, und zwar so, daß die kohlensäurefreie Frischluft auf die Bodenschicht aufgeblasen, die mit Kohlensäure beladene, verbrauchte Luft, aus der Kiesschicht abgesaugt wurde. Von hier aus passierte der Luftstrom die mit n/11 $Ba(OH)_2$-Lösung gefüllten Waschflaschen, in denen die im Boden entstandene Kohlensäure absorbiert und nach Boysen-Jensen (1929) alle 24 Std., während einer Versuchsdauer von 20 Tagen, titrimetrisch bestimmt wurde. Klemmschrauben an den Luftableitungsschläuchen ermöglichten es, den Luftstrom in den drei Versuchsgefäßen einigermaßen gleichmäßig einzustellen und die Apparatur beim Auswechseln der Flaschen mit Bariumhydroxydlösung luftdicht abzuschließen. Für diese Methode wird eine Genauigkeit von $\pm$ 0,1 mg CO_2 bei Verwendung von n/22-Lösung angegeben.

Vergleicht man den Verlauf der Kohlensäureproduktion in den drei Versuchsgefäßen während 20 Tagen (Tab. 5), so ergibt sich, daß die durchschnittliche Tagesproduktion fast gleich ist, und daß die Tageswerte mit zunehmender Versuchsdauer unter periodischen Schwankungen kleiner werden, eine Erscheinung, die z. B. auch v. Suchtelen (1910) beobachtet hat. Im einzelnen zeigt sich bei Bordeauxbrühe im Anfang eine starke, auf chemische Ursachen zurückzuführende Hemmung. Verglichen mit den Ergebnissen der Keimzählung gewinnt man auch hier den Eindruck, daß bei ein-

Tab. 5. Kohlensäureproduktion des Bodens ohne und mit Kupferzusatz in mg CO_2/kg/24h. (Versuchsdauer vom 30. April bis 19. Mai 1938.)

Tag	A	B	C
	Kontrolle	Bordeaux-brühe	Kupfersulfat-lösung
1.	72,4	8,0	60,8
2.	51,2	44,4	60,4
3.	39,6	36,4	42,8
4.	38,4	30,2	34,8
5.	63,6	52,4	44,8
6.	49,6	40,8	45,6
7.	42,0	45,2	37,2
8.	40,2	43,6	38,0
9.	44,0	38,2	36,4
10.	36,4	32,8	34,8
11.	40,4	41,2	33,6
12.	34,6	29,6	32,2
13.	30,4	28,6	34,2
14.	24,2	38,2	20,4
15.	23,6	39,4	35,4
16.	25,4	30,6	32,8
17.	24,2	26,0	25,6
18.	29,2	33,2	28,0
19.	22,3	18,9	22,5
20.	21,5	20.5	22,1
zusammen:	753,2	678,2	722,4
Durchschn.	37,66	33,91	36,12

maliger Kupferzuführung zum Boden nach anfänglicher Hemmung innerhalb Monatsfrist eine fast vollständige Erholung eingetreten ist. Wieweit dabei etwa eine Umschichtung in der qualitativen Zusammensetzung der Bodenflora und -fauna eingetreten ist, wäre Aufgabe einer besonderen Untersuchung.

V. Die Kupferaufnahme durch die höhere Pflanze.

Die Lebensnotwendigkeit kleinster Kupfermengen für die höhere Pflanze wurde z. B. durch die Versuche von Sommer (1930/31) mit Tomaten, Sonnenblumen und Flachs nachgewiesen. Mangel an aufnehmbarem Kupfer scheint, nach Hudig und Mitarbeitern (1926), Rademacher (1936) u. a. die Ursache der Urbarmachungs- oder Heidemoor-Krankheit zu sein.

Die Frage nach der Kupferaufnahme durch die verschiedenen Organe der Pflanze ist schon von Tschirch (1893) behandelt worden. Sowohl Wurzeln (Weizen) wie Blätter (Kartoffel), konnten nach den Untersuchungen von Tschirch Kupfer im einen Fall aus dem Boden, im anderen Fall aus dem Spritzbelag aufnehmen. Auch für eine Beziehung zwischen der Höhe des Kupfergehalts im Boden und in der Pflanze (Weizen) ließen sich Beweise erbringen, ebenso für eine Leitung des mit den Wurzeln aufgenommenen Kupfers in die oberirdischen Teile (Weizen). In den folgenden Jahren wurde die Richtigkeit seiner Ergebnisse ganz oder teilweise bestritten [Frank und Krüger (1894), Rumm (1895) und Zucker (1896)], bis sich Aderhold (1903) auf Grund der Untersuchungen von Bayer (1902), Densch und Hunnius (1924) und Menzel (1935), wieder für eine Aufnahme von Kupfer durch die Wurzeln bzw. die Blätter aussprachen.

Bei dieser Sachlage schien es uns wünschenswert zu sein, die Aufnahme des Kupfers und seine Leitung in der Pflanze bei erhöhtem Kupfergehalt des Bodens und bei Verwendung von Spritzbrühen nochmals experimentell zu überprüfen. Als Versuchspflanzen dienten ein- und zweijährige Rebverdelungen (Sorte „Müller-Thurgau")[1]) und Kartoffeln (Sorte „Goldwährung").

Das Pflanzenmaterial für Spritz- und Gießversuche wurde in Mitscherlich-Gefäßen mit Erde (Reben, Kartoffeln) und in Neubauer-Schalen in Sandkultur (Kartoffeln) gezogen.

Die Versuche wurden mit je 12 Pflanzen nach folgendem Schema durchgeführt:

Kontrollpflanzen unbehandelt.
Pflanzen mit Kupfersulfatlösung gegossen.
Pflanzen mit Bordeauxbrühe gegossen (nur Kartoffel).
Pflanzen ganz mit 1proz. Bordeauxbrühe gespritzt[2]).
Pflanzen zur Hälfte mit 1proz. Bordeauxbrühe gespritzt, wobei die obere Hälfte des Sprosses in eine Hülle aus Billrothbattist eingebunden war.

Das Spritzen und Gießen mit Kupferlösungen erfolgte in der Zeit vom 1. Juli bis 31. August 1936 je viermal, wobei beim Gießen je 100 ccm Bordeauxbrühe oder Kupfersulfatlösung vom Kupfergehalt 0,5% Cu, den einzelnen Mitscherlich-Gefäßen zugeführt und beim Spritzen je etwa 35—45 g einer 1proz. Bordeauxbrühe (Kupfergehalt etwa 0,25%) mit einer Ceca-Handspritze zur gleichmäßigen Benetzung der Sproßachse sowie der Ober- und Unterseite der Blätter, verbraucht wurden.

---

[1]) Wie Versuche mit Ruländer-, Riesling- und Trollinger-Reben zeigten, scheinen Sortenunterschiede in bezug auf die Kupferaufnahme kaum zu bestehen.

[2]) Zur Bestimmung des aufgenommenen Kupfers wurden die Blätter von der äußerlich anhaftenden Spritzbrühe durch sorgfältiges Abwaschen mit verdünnter Salzsäure gereinigt.

Zur Anlage von Sandkulturen lagen die Kartoffeln zunächst zum Vorkeimen in feuchtem Torfmull im Keller. Danach wurden aus der Mutterknolle kleine, flache Stücke, mit 2—3 cm langen Trieben und Würzelchen herausgeschnitten und, nachdem die Schnittfläche in den nächsten 48 Std. abgetrocknet war, in die Sandkultur eingesetzt, so daß die Wurzeln gerade vom Sand bedeckt waren. Jede Neubauer-Schale enthielt 300 g gewaschenen Quarzsand, der mit einer Nährlösung nach Tottingham (100 ccm) getränkt wurde [vgl. Schropp (1932)].

Die Nährlösung enthielt im Liter:

KNO_3	0,36 g
KH_2PO_4	1,471 g
$Ca(NO_3)_2$ (wasserfrei)	1,813 g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	1,997 g
$FePO_4 \cdot 4\ H_2O$	0,004 g

Die Schalen standen während einer Versuchsdauer von 14 Wochen im Gewächshaus, sie wurden je nach Bedarf mit dest. Wasser gegossen und erhielten alle 2—3 Wochen eine neue Gabe von 50 ccm Nährlösung.

Die Analysen, die im allgemeinen mit 10—20 g getrockneter Pflanzensubstanz ausgeführt wurden, ergaben durchweg einen höheren Kupfergehalt in den mit Kupferlösungen behandelten Pflanzen (Tab. 6).

Tab. 6. Kupfergehalt von Rebblättern und Kartoffelblättern. (Kultur der Pflanzen in Mitscherlich-Gefäßen.)

Behandlung	γ Cu/100 g getrocknete Blätter	
	Rebblätter	Kartoffelblätter
Kontrolle	94,2	102,9
Nicht-gespritzte Teile[1])	224,3	253,6
Gespritzt	714,2	—
Gegossen mit Kupfersulfatlösung	151,15	157,1
Gegossen mit Bordeauxbrühe	—	141,76

[1]) Vor der Spritzflüssigkeit geschützte Teile von gespritzten Pflanzen.

Aus dem Ansteigen des Kupfergehalts der Blätter bei der Zuführung des Kupfers durch die Wurzeln auf etwa das 1,5—1,6fache der Kontrollwerte geht hervor, daß eine Leitung des von den Wurzeln aufgenommenen Kupfers stattgefunden hat. Auch innerhalb des Sprosses wandert das Kupfer von gespritzten zu nicht gespritzten Teilen[1]). Der Kupferwert gespritzter Blätter ist wegen der Schwierigkeiten beim Entfernen des Spritzbelags vermutlich noch etwas zu hoch.

Aus nicht veröffentlichten Versuchen von Steinhart geht hervor, daß auch im Kupfergehalt der Weinbeeren von gespritzten und nicht gespritzten Rebstöcken Unterschiede bestehen (Tab. 7).

Zieht man Kartoffeln in Sandkultur, so ist wegen des Wegfalls der Bodenadsorption und der Abwanderung in tiefere Bodenschichten die Kupferaufnahme gesteigert. Selbst unter diesen Bedingungen ist der Kupfergehalt jedoch noch nicht ausreichend hoch, um eine Infektion der Blätter durch Phytophthora infestans zu verhüten. Kartoffelpflanzen, die in Sandkultur zum Teil mit 0,036 und zum Teil mit 0,36 g (im letzten Falle

[1]) Eine Zuführung auf dem Umweg über den Boden und die Wurzeln ist unwahrscheinlich, da der Kupfergehalt der oberirdischen Teile bei direkter Zufuhr des Kupfers zum Boden erheblich niedriger ist.

in 4 Portionen zu je 0,09 g) $CuSO_4$ (rund 0,009 bzw. 0,09 g Cu) aufgezogen wurden, erlagen im Gewächshaus nach Aufspritzen einer Sporangienaufschwemmung von Phytophthora infestans etwa im gleichen Maße der Infektion wie die Kontrollpflanzen.

Tab. 7. Kupfergehalt von Weinbeeren.
γ Cu/100 g.

	Von gespritzten Rebstöcken (Handelsware)	Von nicht gespritzten Rebstöcken
Ganze, gewaschene Beeren .	167,6 241,69	114,41
Im Waschwasser (250 ccm auf 200 g Trauben)	1130,0	—
Beeren-Inhalt	163,04	104,7
Süßmost	280,1 (100 ccm) 270,82 (100 ccm)	—

VI. Zusammenfassung.

1. Das dem Boden in Form von Bordeauxbrühe oder Kupfersulfatlösung zugeführte Kupfer wandert allmählich in tiefere Bodenschichten ab. Der Kupfergehalt der obersten Bodenschichten sinkt erst rasch, dann immer langsamer. Nach 20 Tagen ist der Kupfergehalt noch etwa 3—4mal so hoch wie bei der Kontrolle.

2. In Weinbergserde wurde in den Oberflächenschichten ein Kupfergehalt von 0,03% Cu, in 50 cm Tiefe ein Kupfergehalt von 0,009% Cu ermittelt.

3. Die heterotrophen Bodenbakterien und Azotobakter werden in Böden mit einem auf 6 mg/100 g Erde erhöhten Kupfergehalt zunächst geschädigt. Nach etwa 20 Tagen ist der normale Keimgehalt wieder erreicht.

4. Der Algentiter wird in gekupferten Böden herabgesetzt und die Entwicklung der Algen in den Titerlösungen wird verzögert. Nach 20 Tagen ist ein Ausgleich noch nicht erfolgt.

5. Ein Vergleich der Kohlensäureproduktion von Böden mit und ohne Kupferzusatz während 20 Tagen erbrachte im großen ganzen eine Bestätigung der mit der Methode der Keimzahlbestimmung erhaltenen Resultate.

6. Rebpflanzen und Kartoffeln nehmen Kupfer durch die Wurzeln auf und leiten es in die oberirdischen Teile.

7. Auch durch Blätter, die mit Bordeauxbrühe gespritzt wurden, erfolgt eine Kupferaufnahme. Von hier wird das Kupfer in nicht gespritzte Blätter geleitet.

8. Weinbeeren (Handelsware) von gespritzten Rebstöcken haben einen höheren Kupfergehalt als Beeren von nicht gespritzten Rebstöcken.

9. In Süßmost (Handelsware) beträgt der Kupfergehalt etwa 270—280 γ je 100 ccm.

Schrifttum.

Aderhold, Ber. d. Vertreter d. angew. Bot. Bd. 1. 1903. S. 12. — Bayer, L., Dissert. Königsberg 1902. — Boysen-Jensen, P., in: Oppenheimer, Die Fermente. Bd. 3. 1929. S. 672. — Densch, A. und Hunnius, Ztschr. f. Pflanzenernährg. u. Düngung. A. Bd. 3. 1924. S. 369. — Feher, D., Untersuchungen über die Mikrobiologie des Waldbodens. Berlin 1933. — Frank, B.

und Krüger, F., Arb. d. Dtsch. Landwirtschaftsges. Heft 2. 1894. — van Gennep, V. C., Dissert. Baarn, Hollandia Drukkerij, 1936. — Hudig, J. und Meyer, C., unter Mitwirkung von Goodyk, Ztschr. f. Pflanzenernährg. u. Düng. Teil A. Bd. 8. 1926. S. 14. — Karnahl, H., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1931. S. 494. — Menzel, K. C., Angew. Bot. Bd. 17. 1935. S. 225. — Rademacher, B., Arb. d. Biol. Reichsanst. Bd. 21. 1936. S. 531. — Riehm, E., Pflanzenschutzpraktikum. Berlin 1931. — Rumm, C., Dissert. Bern 1895. — Schropp, W., Arb. d. Biol. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtschaft. Bd. 20. 1932. S. 49. — Schwartz, W. und Müller, W., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 2. 1931. S. 620. — Schwartz, W. und Steinhart, H., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 2. 1931. S. 261. — Sommer, A. L., The American Fertilizer, March 15, 1930. — Sommer, A. L., Plant Physiol. Vol. 6. 1931. p. 339. — Stoklasa, J. und Ernest, A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 14. 1905. S. 723. — Stapp, C. und Bucksteeg, W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 97. 1937. S. 1. — Suchtelen, H. van, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 28. 1910. S. 45. — Tschirch, A., Das Kupfer. Stuttgart 1893. — Zucker, A., Dissert. Erlangen 1896.

Das Vorkommen von Nitrat im Stalldung unter besonderer Berücksichtigung der Nitratbestimmungsmethoden[1].

[Aus dem Institut für Bakteriologie und Bodenkunde des Landwirtschaftlichen Institutes der Universität Leipzig.]

Von **Heinrich Ofterdinger.**

Mit 9 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Der im landwirtschaftlichen Betrieb anfallende Stallmist ist ein Gemisch von Stroh, Harn und Kot. Er enthält Nährstoffe, die zum großen Teil dem Boden entstammen. Diese müssen, um einer Verarmung des Bodens in jeder Beziehung entgegenzuarbeiten, dem Boden wieder zurückgegeben werden. Auf diese Weise entsteht ein Kreislauf, in den alle organischen Substanzen, die bei der menschlichen und tierischen Ernährung bzw. für die Rohstoffwirtschaft nicht benötigt werden, eingeschaltet werden. Die Notwendigkeit, den Stallmist wieder in diesen Kreislauf einzufügen, ist um so zwingender, je größer die durch eine Erhöhung der Ernteerträge dem Boden entnommenen Stoffmengen sind. Eine verlustlose Zurückführung aller im Mist enthaltenen organischen und anorganischen Verbindungen wäre jedoch nur möglich durch sofortiges Aufbringen des anfallenden Stallmistes auf das Ackerland, da während der Lagerung des Stallmistes Verluste an Masse eintreten. Diese Art der Düngung ist aus zwei Gründen unzweckmäßig bzw. undurchführbar. Unzweckmäßig ist sie, da frisch in den Boden gebrachter Mist nicht nur eine geringe Ausnützung seiner Nährstoffe durch die Pflanzen erfährt, sondern im Gegenteil, wie sich aus vielen Untersuchungen einwandfrei ergeben hat (1), auf das Pflanzenwachstum schädlich wirkt. Sie ist aber auch in der Praxis undurchführbar, da der Mist laufend anfällt, eine Düngung jedoch nur in der Zeit zwischen Ernte und Neuansaat erfolgen kann. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit einer Düngerlagerung.

Schon zu Beginn des vorigen Jahrhunderts beobachteten praktische Landwirte und Wissenschaftler, daß das Lagern von Stallmist immer zu Verlusten führte (2), deren Ursachen jedoch zunächst unbekannt blieben. Trotz dieses Nachteiles schätzte man schon sehr früh die Vorzüge eines derartig veränderten oder wie man auch sagt vergorenen Mistes so hoch, daß z. B. v. Hazzi (3) erklärte: „Erst durch die Gärung wird der Mist zum Dünger, d. h. zur Pflanzennahrung."

Der Zweck der Gärung besteht also darin, dem frischen Stallmist eine physikalische und chemische Struktur zu geben, die neben einer Verbesserung des Bodens, eine mög-

[1]) Erschienen als Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Abteilung der Philosophischen Fakultät der Universität Leipzig.

lichst günstige Ausnutzung aller von den Pflanzen benötigten Nährstoffe gestattet. Man erkannte aber auch sehr bald, daß eine Vergärung des Stalldüngers ohne Verluste nicht denkbar ist, und darum ergab sich die Forderung, die Verluste möglichst niedrig zu halten und trotzdem eine Höchstwirkung zu erzielen.

Um das zu erreichen, war eine genaue Kenntnis aller derjenigen Vorgänge notwendig, die man heute unter dem Begriff „Düngerrotte" zusammenfaßt. Frühere Autoren betrachteten die Gärung lediglich als eine Summe rein chemischer Vorgänge, und erst durch die Arbeiten von Kette (4), Déhérain (5) und später auch Schlösing (6) wurde bewiesen, daß die Tätigkeit von Bakterien als Hauptursache dieser Gärung anzusehen ist. Ruschmann (7) unterscheidet zwei völlig getrennte Entwicklungsphasen während der Lagerung, nämlich einmal eine biologische und anschließend eine chemische, die nach Beendigung der Bakterientätigkeit, allerdings weniger tiefgreifend, einsetzt. Horn (8) spricht von einer aeroben und anaeroben Phase, wobei beide selbstverständlich ineinander übergehen, ja sogar nebeneinander bestehen. Diese biologischen und chemischen Umsetzungen erfassen nun in erster Linie sowohl die vorhandenen Kohlenstoff- als auch Stickstoffverbindungen. Die im Kot und Stroh enthaltenen C-haltigen Stoffe, wie Fette und Kohlenhydrate, führen durch ihre bakterielle Zersetzung während der Lagerung zu Verlusten an Trockensubstanz bis 50% und mehr [Rosenberg-Lipinski (9)]. Die Höhe dieser Verluste ist, wie aus den Arbeiten von Ehrenberg, Reichenbach und Jegerom (10) hervorgeht, in weitem Maße abhängig von Temperatur, Feuchtigkeitsgehalt, Lagerungsdauer und von der Art des Materials selbst.

Durch Veränderung und Regulierung dieser Faktoren versuchte man die zweckmäßigste Art der Düngerbehandlung zu finden. Aus diesem Bestreben entwickelten sich die verschiedenen Verfahren der Düngerbehandlung wie Heißvergärung, Kaltvergärung, Stapelverfahren usw., je nachdem, ob man die Art der Stapelung oder die Methode der Vergärung in den Vordergrund der Betrachtungen rückte.

Bei der Wirkung des Stalldüngers im Acker haben wir es einmal mit einer Ausnutzung der Nährstoffe wie Stickstoff, Kalium, Phosphor usw. zu tun, andererseits ist die bodenverbessernde Eigenschaft der Humusstoffe von großer Bedeutung. Wird der erste Standpunkt den Betrachtungen zugrunde gelegt, dann erscheint der Stallmist als Pflanzendünger, während er im zweiten Falle als ein Bodendünger aufzufassen ist. Das Streben der landwirtschaftlichen Forschung ist also nicht auf die einmalige Erzielung von Höchsterträgen gerichtet, sondern auf eine dauernde Erhöhung der Bodenfruchtbarkeit. Infolgedessen ist es nicht nur möglich, sondern auch nötig, einzelne Probleme getrennt zu bearbeiten, die gewonnenen Ergebnisse aber müssen unter dem Gesichtspunkt der Ertragssicherheit der Böden ausgewertet werden.

Hauptteil: Das Vorkommen von Nitrat im Stalldung unter besonderer Berücksichtigung der Nitratbestimmungen.

Die vorliegenden Untersuchungen sollten einen Beitrag zur Erforschung der Stickstoffverluste liefern.

Bereits Holdefleiß (11) fand, daß selten weniger als 10%, Ehrenberg und Reichenbach (12) sogar, daß meist über 30% Stickstoffverluste eintraten. Russell und Richards (13) stellten in offen lagernden Düngerhaufen innerhalb von 3—6 Monaten bis zu 33% Verluste fest. In neuerer Zeit wurden von verschiedenen Autoren, je nach der Art der Düngerbehandlung, unterschiedliche Zahlen ermittelt. Glathe (14) fand z. B. in offen gelagertem Material durchschnittlich 40% Stickstoffverluste.

Um eine Unterbindung dieser Verluste zu erreichen, ist es Voraussetzung, daß der Chemismus der Vorgänge bekannt ist.

Noch heute sind die Ansichten über die Ursachen sehr geteilt. Während z. B. Joulie (15) in früherer Zeit in der Ammoniakverdunstung die wesentlichste Ursache zu erkennen glaubte, nahm Déhérain (16) an, daß das Entweichen von Stickstoff in elementarer Form die größten Verluste mit sich bringt. Hierbei kann es sich nach Ansicht von Löhnis (17), Niklewsky (18) und Ruschmann (19) erstens um indirekte Denitrifikation handeln, wenn entstandene salpetrige Säure auf Ammoniak, Amine oder Aminosäuren unter Stickstoffentbindung einwirkt. Zweitens kann eine direkte Denitrifikation vorliegen, wenn Mikroorganismen aus Salpeter, Ammoniak oder organischen Verbindungen den Stickstoff in elementarer Form freimachen. In beiden

Fällen muß eine Nitrifikation vorausgegangen sein, und die Anwesenheit von Nitraten ist im ersten Falle wahrscheinlich, im zweiten Falle jedoch notwendig.

Die wiederholt in der Literatur angegebenen Nitratmengen im Stallmist sind überraschend hoch, denn es läge nahe, daß diese denitrifiziert worden wären, da ja die denitrifizierenden Bakterien stark im Mist verbreitet sind. Auf jeden Fall muß jedoch die Anwesenheit von Nitrat auf eine Nitrifikationstätigkeit bestimmter Bakterien schließen lassen, während andererseits das Fehlen von Nitrat kein Beweis dafür ist, daß eine Nitrifikation nicht stattgefunden hat, da Nitrat laufend denitrifiziert oder reduziert worden sein kann.

Die Schwierigkeiten, das Vorhandensein und die Umsetzung von Nitrat im organischen Dünger zu verfolgen, sind durch die Menge der darin nebeneinander und ineinander laufenden chemischen und biologischen Prozesse außerordentlich groß und werden besonders in chemischer Hinsicht durch das Fehlen exakter und spezieller Untersuchungsmethoden erheblich vergrößert. Fast alle Nitratbestimmungsmethoden, die heute für laufende Düngeranalysen in Anwendung sind, wurden aus bodenchemischen Untersuchungen übernommen. Denn wenn auch der Boden an sich ein recht unterschiedliches Material gegenüber dem Mist darstellt, so gibt es doch einige Grenzfälle zwischen beiden, wie z. B. Komposte oder sehr humose Böden, und es lag daher nahe, die Methoden des einen auch auf das andere Objekt zu übertragen. Wieweit dieses in jedem Falle zu rechtfertigen ist, soll unter anderem hier einer eingehenden Prüfung unterzogen werden. Einerseits sollen also zunächst die gebräuchlichen Methoden der chemischen Nitratbestimmung für Stallmist und einige, bisher noch nicht für dieses Material angewandte Bestimmungsmöglichkeiten vergleichenderweise auf ihre Zuverlässigkeit geprüft werden. Andererseits wurde versucht, durch bakteriologische und chemische Untersuchungen zur Klärung der in Düngern verschiedenster Lagerungsarten beobachteten Verluste beizutragen, sowie festzustellen, ob und inwieweit diese durch Nitrifikationsvorgänge hervorgerufen werden können.

I. Methodik: Prüfung mehrerer Nitratbestimmungs-Methoden auf ihre Verwendbarkeit für die Düngeranalyse.

Der Nachweis von Nitrat beruht auf folgenden Eigenschaften:

1. Nitrate bilden mit Brucin, Strychnin, Diphenylamin, Diphenylbenzidin, Indigo und einigen anderen organischen Verbindungen Farbreaktionen, deren Intensität von der Menge des vorliegenden Nitrates abhängig ist und daher sowohl für den qualitativen als auch für den quantitativen Nachweis benutzt werden kann.

2. Nitrat wird durch Schwefelsäure in Salpetersäure und das betreffende Sulfat umgesetzt. Die freie Salpetersäure kann mit Phenol zu Nitrophenol [$C_6H_4(OH)NO_2$] gebunden und durch Reduktionsmittel zu Aminophenol [$C_6H_4(OH)NH_2$] reduziert werden. Letzteres wird mit Schwefelsäure zu Ammonsulfat gelöst und in alkalischer Lösung als Ammoniak abdestilliert.

3. Nitrat bildet mit Nitron (Diphenyl-endanilo-dihydrotriazol, $C_{20}H_{16}N_4$) das in Wasser fast unlösliche entsprechende Nitrat, welches gravimetrisch bestimmt werden kann.

4. Nitrate, in konzentrierter Schwefelsäure gelöst, bilden mit Ferrosulfatlösung eine recht beständige braune Molekularverbindung, die wahrscheinlich die Formel $FeSO_4 \cdot NO$ hat. Die Reaktion wird meist ausgeführt, indem man die zu untersuchende Lösung mit Ferrosulfatlösung mischt und mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Die Salpetersäure wird durch Ferrosulfat zunächst zu Stickstoffoxyd reduziert, welches sich mit brauner Farbe auflöst.

5. Nitrat wird durch Reduktionsmittel, wie freien Wasserstoff, zu Ammoniak reduziert und als solches abdestilliert. Die Bildung von freiem Wasserstoff geschieht hierbei meist durch Einwirkung von Säuren oder Alkalien auf Metalle. An Stelle von

einfachem Metall werden auch vielfach Legierungen verwendet, wie die von Arndt und Devarda.

6. Nitrate werden mit Ferrochlorid und Salzsäure zu NO reduziert. Dieses entweicht als Gas und kann volumetrisch bestimmt werden.

7. Salpetersäure hat die Eigenschaft, auf aromatische Verbindungen nitrierend zu wirken und bildet z. B. mit Xylenol (1, 3, 4) das 1-, 3-, 4-, 5-Nitroxylenol. Letzteres ist eine leicht flüchtige, gut abzudestillierende Verbindung, die in Natronlauge aufgefangen, sich mit rötlich-gelber Farbe löst. Die Farbtiefe ist von der Menge des vorhandenen Nitroxylenols abhängig und ermöglicht dadurch eine quantitative kolorimetrische Bestimmung.

1. Nitratbestimmung mit Brucin, Indigo, Diphenylamin und Diphenylbenzidin.

Der quantitative Nachweis von Nitrat mit Brucin, Indigo, Diphenylamin und Diphenylbenzidin erfolgt auf kolorimetrischem Wege. Er wird also durchgeführt, indem man die Farbreaktion, die das Untersuchungsobjekt mit dem Reagens bildet, mit der Farbskala einer Lösung von bekanntem Nitratgehalt vergleicht und danach den gesuchten Wert ermittelt. Demzufolge ist die Genauigkeit der Messung bedingt durch das subjektive Farbempfinden des Analytikers.

Um festzustellen, welches von obigen Reagenzien die größte Empfindlichkeit gegen Nitrate zeigt, wurde eine Reihe einer Kaliumnitratlösung in steigender Verdünnung mit ihnen geprüft. 11 Lösungen enthielten von 0,1—0,000 01 g KNO_3. Tab. 1 zeigt folgende Ergebnisse:

Tabelle 1.

Reagens	mg Kaliumnitrat in 100 g Lösung:										
	100	50	10	5	1	0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001
Brucin . .	st.[1])	st.	mi.	mi.	schw.	—	—	—	—	—	—
Indigo . .	st.	st.	mi.	schw.	schw.	schw.	—	—	—	—	—
Diphenylamin . .	st.	st.	st.	st.	st.	mi.	schw.	schw.	—	—	—
Diphenylbenzidin .	st.	st.	st.	st.	st.	st.	mi.	mi.	mi.	schw.	schw.

[1]) st. bedeutet starke, mi. mittlere, schw. schwache Reaktion.

Danach sind also Diphenylamin und Diphenylbenzidin bei weitem am empfindlichsten. Die schwachen Reaktionen mit letzterem sind jedoch praktisch nicht zu verwerten, da mehrere Kontrollproben mit reinem destilliertem Wasser in einigen Fällen ebenfalls schwache Reaktionen zeigten, was m. E. dadurch zu erklären ist, daß die Laboratoriumsluft immer geringe Spuren von Nitrat enthält.

Da die im Stallmist zu erwartenden Nitratmengen nach Angaben von Niklewski, Löhnis und Ruschmann sehr oft unter 0,2 mg% Stickstoff liegen, was einem Kaliumnitratgehalt von 1,4 mg% entspräche, so wären theoretisch sämtliche obigen Methoden zumindest für qualitative Untersuchungen verwendbar.

Um dieselben jedoch auf Mist bzw. Extrakte desselben anzuwenden, sind verschiedene Schwierigkeiten zu beseitigen. Die wässerigen Auszüge von frischem oder getrocknetem Dünger enthalten neben eventuellem Nitrat auch

immer andere Stoffe, die teils in echter Lösung, teils in kolloider Verteilung in das Lösungsmittel übergegangen sind, so daß man fast niemals eine klare Lösung erhält. Bei der kolorimetrischen Bestimmung stören aber sowohl Farbstoffe als auch kolloide Trübungen, falls diese nicht durch Filtrationen zu beseitigen sind.

Es lag nahe, durch bekannte Klärmittel wie Carbo animalis, Bolus, Plumbum aceticum, Terra silicea, Gelatine oder Traganth zu versuchen, die Lösungen zu klären, dabei aber zu prüfen, ob und inwieweit durch diese eventuell eine Absorption von Nitrat erfolgt. Diese Prüfungen wurden an einer Reihe bekannter Nitratlösungen vorgenommen. Als Vergleichsfarbskala dienten die Reaktionen mehrerer Nitratlösungen mit Diphenylaminschwefelsäure. Tab. 2 zeigt, in welcher Farbstufe drei mit Klärmitteln behandelte Proben erscheinen. Die erste Probe enthielt vor Zusatz des jeweiligen Klärmittels 3 mg, die zweite 6 mg und die dritte 10 mg Kaliumnitrat in 1 l Wasser. Sie sind in der Tabelle als 3, 6 und 10 gekennzeichnet.

Tabelle 2.

Farbskala mit Diphenylamin-Schwefelsäure und KNO_3-Lösung von mg pro Liter.

Klärmittel	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Carbo anim. .			3			6			10!	
Bolus alba . .	3	6			10					
Terra silic. . .	3 u. 6	10								
Plb. acetic. . .			(Durch Trübung veränderte Farbe)							
Gelatine . . .										3, 6 u. 10
Traganth . .	6			10						

Tabelle 3.

Farbskala von Diphenylamin-Schwefelsäure mit wässerigen KNO_3-Lösungen von 0,01 bis 0,1%.

Material	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,10
I. Mistextrakt nitratfrei . . .					×					
Mistextrakt nitratfrei . . .				×						
II. Mistextrakt unbehandelt . .						×				
Mistextrakt unbehandelt . .						×				
III. Mistextrakt mit Nitr. vers. .										
1. Mist + 0,01% KNO_3 . . .				×						
2. Mist + 0,02% KNO_3 . . .				×						
3. Mist + 0,03% KNO_3 . . .				×						
4. Mist + 0,04% KNO_3 . . .						×				
5. Mist + 0,05% KNO_3 . . .					×					
6. Mist + 0,06% KNO_3 . . .					×		×			
7. Mist + 0,07% KNO_3 . . .							×			
8. Mist + 0,08% KNO_3 . . .										
9. Mist + 0,09% KNO_3 . . .								×		
10. Mist + 0,10% KNO_3								×		

Äußerst geringe Absorption zeigt demnach Kohle, während alle anderen entweder stark absorbierend wirken oder die Farbreaktion anderweitig beeinflussen.

Auf Grund dieser Feststellung wurden einige Düngerproben versuchsweise in gleicher Weise untersucht.

Der frische Mist wurde nach dem Trocknen bei 100° C gepulvert, mit destilliertem Wasser extrahiert, mit Kohle geklärt und durch Hartfilter filtriert. Es sei vorausgeschickt, daß die Filtrate fast immer klar wurden, allerdings trotz wiederholter Behandlung mit Kohle etwas gelblich blieben.

Da für die Höhe des im Dünger enthaltenen Nitrates keinerlei Anhaltspunkte gegeben waren, so wurde versucht, durch Zugabe von steigenden Mengen Kaliumnitrat zum Untersuchungsmist eine Vergleichsreihe zu erhalten. Ein Teil des Filtrates wurde nach dem unter I, 3 beschriebenen Verfahren „nitratfrei" gemacht und dann teils ohne, teils mit Zusatz bekannter Kaliumnitratmengen mit Diphenylaminschwefelsäure wie vorher geprüft. Tab. 3 gibt die Farbtiefe an, in der die Proben auf der Kontrollskala einzuordnen waren.

Theoretisch müßten die Werte der Proben III sich aus denen von I plus zugegebener Menge KNO_3 ergeben. Sie sind jedoch erstens bedeutend niedriger als zu erwarten und zeigen außerdem völlig unregelmäßig an. Diese Art der Bestimmung ist infolgedessen nicht anwendbar.

2. Nitratbestimmung mit Phenolschwefelsäure.

Für die Bestimmung von Gesamtstickstoff in Substanzen, die gleichzeitig Nitratstickstoff enthalten, wird meist die Methode von Foerster empfohlen. Das im Stallmist enthaltene Nitrat würde hierbei an Phenol zu Nitrophenol gebunden [$C_6H_4(OH)NO_2$], dann mit Natriumthiosulfat ($Na_2S_2O_3$) zu Aminophenol reduziert [$C_6H_4(OH)NH_2$] und nunmehr als Gesamtstickstoff mit Hilfe des Kjeldahl-Aufschlusses bestimmt. Eine Parallele ohne Phenolzusatz ergibt den Gesamtstickstoff ausschließlich des Nitratstickstoffes. Die Differenz beider Bestimmungen würde also den Nitratstickstoff ergeben. Es ist demnach eine indirekte Art der Bestimmung, welche zwei Arbeitsgänge erfordert.

Die Zuverlässigkeit der damit erhaltenen Nitratergebnisse wurde an 10 verschiedenen Misten mit und ohne Zusatz von Kaliumnitrat erprobt. Die Werte wurden später mit den Ergebnissen der Xylenol-Methode verglichen.

Jeder Untersuchungsmenge (5 g Frischmist) wurde 1 mg getrocknetes Kaliumnitrat zugesetzt. Bei den orientierenden qualitativen Untersuchungen mit Diphenylamin u. a. hatte es sich gezeigt, daß die dem Mist zugesetzten Nitratmengen nie restlos wiedergefunden werden konnten. Offenbar wurden dieselben sofort zu Ammoniak reduziert. Um dieses hier zu verhindern, wurde das Salz erst zugegeben, nachdem der zu prüfende Mist im Kjeldahl-Kolben mit der Phenolschwefelsäure einige Minuten gestanden hatte. Damit war auch einer eventuellen Denitrifikation vorgebeugt.

Der Untersuchungsgang war demnach folgender:

5 g Frischmist wurden in einem Aufschlußkolben mit 20 ccm Phenolschwefelsäure (6% Phenol) unter Umschwenken 2—3 Min. stehengelassen. Den Kontrollproben wurde daraufhin vorsichtig je 1 mg Kaliumnitrat zugegeben und dann alle Proben mit 5 g gepulvertem Kaliumnitrat versetzt und 1 Std. lang unterm Abzug belassen. Nach dieser Zeit erfolgte nochmals ein Zusatz von je 10 ccm konzentrierter Schwefelsäure und einigen Körnchen Kupfersulfat. Der Aufschluß nach Kjeldahl dauerte durchschnittlich 5—6 Std. Vor der nun folgenden Destillation wurden die Kolben bis etwa zur Hälfte mit destilliertem Wasser und einer zur Neutralisation der Schwefelsäure ausreichenden Menge Natronlauge versetzt. Die Destillation des Ammoniaks

erfolgte nun solange, bis ein Tropfen der übergehenden Flüssigkeit mit Neßlers Reagens keine Färbung mehr zeigte.

Von jedem Mist wurden zwei Parallelen mit und ohne Nitratzusatz untersucht. Außerdem wurde der Stickstoffgehalt der verwendeten Reagenzien durch Blindversuch ermittelt und in Abzug gebracht. Das Zurücktitrieren der Schwefelsäurevorlage erfolgte mit Feinbüretten. Die Ergebnisse sind in Tab. 4 zusammengestellt.

Tabelle 4.

Nr.	a) mit, b) ohne 1 mg KNO_3 (1,44 mg N auf 100)	Bestimmung: II. % Gesamt-N ohne Phenol in g	Bestimmung: III. % Gesamt-N mit Phenol in g		Berechnung: III a—III b (theoretisch I = 0,00144)	Berechnung: III b—II b Nitr.-N-Gehalt von 100 g F. M.
1	a) mit . .	0,448 7	0,450 1	% Diff.	— 0,000 9	0,002 0
	b) ohne . .	0,449 0	0,451 0		— 162,5	
2	a) mit . .	0,453 0	0,456 0	% Diff.	+ 0,001 6	0,005 4
	b) ohne . .	0,449 0	0,454 4		+ 16,67	
3	a) mit . .	0,523 0	0,525 0	% Diff.	— 0,001 5	0,001 5
	b) ohne . .	0,525 0	0,526 5		— 204,16	
4	a) mit . .	0,400 0	0,403 5	% Diff.	+ 0,001 7	0,000 8
	b) ohne . .	0,401 0	0,401 8		+ 18,055	
5	a) mit . .	0,401 0	0,387 3	% Diff.	+ 0,001 2	0,003 0
	b) ohne . .	0,383 0	0,386 1		— 16,32	
6	a) mit . .	0,418 8	0,418 8	% Diff.	—	0,000 8
	b) ohne . .	0,418	0,418 8		— 100,0	
7	a) mit . .	0,352 0	0,372 0	% Diff.	—	—
	b) ohne . .	0,379 0	—			
8	a) mit . .	0,559 0	0,565 4	% Diff.	+ 0,002 9	0,000 5
	b) ohne . .	0,562 0	0,562 5		+ 100,0	
9	a) mit . .	0,512 0	0,519 7	% Diff.	+ 0,002 8	0,001 5
	b) ohne . .	0,511 0	0,512 5		+ 95,10	
10	a) mit . .	0,399 0	0,429 3	% Diff.	+ 0,000 5	0,001 8
	b) ohne . .	0,427 0	0,428 8		65,3	

Nach der Art, wie der Zusatz des Kaliumnitrates erfolgte, war zu erwarten, daß dieses in der Tabelle unter der Rubrik „III a—III b" erscheinen würde. Es ergeben sich jedoch die in derselben Reihe angegebenen Differenzen vom theoretischen Wert 0,001 44. Da diese Abweichungen teilweise ca. 200% betragen, so ist auch die unter „III b—II b" errechnete, ursprünglich im Mist enthaltene Nitratmenge eine ebensowenig sichere Zahl, es dürfte dabei gleichgültig sein, in welcher Form das Nitrat-Ion ursprünglich im Dünger vorlag. Aus den Ergebnissen geht also hervor, daß die Nitratbestimmung im Stalldünger mit Hilfe der Phenolschwefelsäure-Methode völlig unzuverlässig ist. Wenn trotzdem später eine Reihe von Untersuchungen damit durchgeführt wurde, so geschah es, um die Ergebnisse verschiedener Methoden vergleichsweise gegenüberzustellen.

3. Nitratbestimmung mit Nitron.

Nitratbestimmungen in organischem Dünger wurden bisher mit Nitron noch nicht ausgeführt. Da jedoch das Diphenyl-endanilo-dihydrotriazol als einzige Verbindung in Wasser schwer lösliches Nitrat bildet, so

wurde seine Verwendbarkeit bzw. Empfindlichkeit ebenfalls einer Prüfung unterzogen.

In der Originalarbeit von Busch (20) führt der Erfinder seine Nitratbestimmungen in wässerigen Lösungen mit bekannten Nitratmengen ausführlich an und kommt zu dem Ergebnis, daß die Methode bei gewöhnlicher Temperatur in einer Verdünnung von 1 : 60 000 gute Resultate ergibt und bei 0° C bis 1 : 80 000 zu verwenden ist. Diese Empfindlichkeit dürfte allerdings für Bestimmungen in einfachen Düngerextrakten nicht ausreichen, aber es besteht die Möglichkeit, durch Einengung des wässerigen Auszuges eine Konzentration von genügender Stärke herzustellen und dadurch die untere Erfassungsgrenze beliebig zu erhöhen. Zur Nachprüfung der Ergebnisse von Busch wurden zunächst Untersuchungen mit reinen Salzlösungen von bekanntem Gehalt durchgeführt. Der Gang der Analyse nach Busch ist folgender:

10 g Nitron werden mit 5proz. Essigsäure zu 10 ccm gelöst. 5—6 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit versetzt man mit 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure und gibt nun 10—12 Tropfen obiger Nitron-Essigsäurelösung dazu. Diese Fällung des Nitronnitrates muß in heißer Lösung erfolgen. Da die Löslichkeit dieser Verbindung mit zunehmender Wärme steigt, läßt man die Flüssigkeit 1—2 Std. in Eiswasser erkalten und filtriert durch Neubauer-Tiegel ab. Nach mehrmaligem Durchsaugen des Filtrates wird der Rückstand mit möglichst wenig (10—12 ccm) Eiswasser nachgewaschen, und zwar derart, daß es tropfenweise zugegeben wird, so daß die Flüssigkeit immer sofort abgesaugt wird. Der Niederschlag wird im Tiegel bis zur Gewichtskonstanz bei 110° C getrocknet und gewogen, und dann die Menge des erhaltenen Nitrates ermittelt.

Gravimetrische Bestimmung des Nitratgehaltes einer bekannten Lösung mittels Nitron:

Erste Bestimmung:

0,025 1 g bei 100° C getrocknetes Kaliumnitrat wurden in etwa 5 ccm destilliertem Wasser gelöst, mit 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure versetzt, bis fast zum Sieden erhitzt und nach obiger Vorschrift mit Nitron-Essigsäure-Lösung gefällt, dann getrocknet und gewogen:

Einwage	0,025 1 g KNO_3
ergibt berechnet	0,015 66 g HNO_3
Gewicht des Nitronnitrates	0,091 07 g
Umgerechnet nach der Formel:	
$C_{20}H_{16}N_4HNO_3 \left(\frac{63}{375}\right)$	0,015 30 g HNO_3
Differenz	— 0,000 36 g HNO_3
entspricht	— 2,3% der Gesamtmenge

Zweite Bestimmung:

Einwage	0,008 17 g KNO_3
ergibt berechnet	0,005 10 g HNO_3
Gewicht des Nitronnitrates	0,031 60 g
ergibt umgerechnet	0,005 30 g HNO_3
Differenz	+ 0,000 20 g HNO_3
entspricht	+ 3,77% der Gesamtmenge

Diese Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit denen von Busch überein. Für die Anwendung der Methode auf Düngerextrakte sind folgende Momente zu beachten: Nitron bildet auch mit anderen Verbindungen, wie z. B. mit Bromwasserstoff, Jodwasserstoff, salpetriger Säure, Chromsäure, Chlorsäure, Überchlorsäure, Rhodanwasserstoff, Oxalsäure und Pikrinsäure schwer- oder unlösliche Salze, die also die Bestimmung von Nitrat stören.

Bis auf chlorige und überchlorige Säure sind diese Verbindungen jedoch unschwer zu entfernen. Es ergab sich somit die Notwendigkeit, vor Beginn der Ausführung die Untersuchungsflüssigkeit auf die Anwesenheit obengenannter Stoffe zu prüfen.

Die Bestimmung von Nitrat im Mist gestaltete sich demnach in folgender Weise:

100 g Frischmist wurden aus später angegebenen Gründen in einem Liter 2proz. Kupfersulfatlösung 5 Min. lang gekocht und noch heiß durch ein Hartfilter in eine Porzellanschale filtriert. Nachdem zweimal mit heißem Wasser nachgewaschen war, wurde in bekannter Weise auf die obengenannten Stoffe qualitativ geprüft bzw. diese entfernt und das Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit 10proz. verdünnter Schwefelsäure aufgenommen, die Lösung filtriert, erhitzt und nach Vorschrift mit Nitron-Essigsäure-Lösung ausgefällt. Die gravimetrische Bestimmung erfolgte in der beschriebenen Weise.

Ursprünglich war Wert darauf gelegt worden, die Bestimmung so zu gestalten, daß nur Nitrat, ohne eventuell vorhandenes Nitrit, erfaßt wurde. Letzteres durch Zusatz von Harnstoff zu entfernen, ist nicht ratsam, da beim Entweichen der NO_2-Dämpfe stets wieder ein Teil davon gelöst wird und dann einen höheren Nitratgehalt vortäuschen würde.

Busch (20) entfernt das Nitrit mit Hilfe von Hydrazinsulfat. Er gibt die konzentrierte Untersuchungslösung tropfenweise auf fein gepulvertes Hydrazinsulfat, wobei darauf zu achten ist, daß bei dem eintretenden Schäumen keine Substanzverluste entstehen und keine Erhitzung eintritt (Wasserkühlung). Nach Beendigung der Stickstoffentwicklung wird mit Wasser auf 100 ccm verdünnt und alsdann, wie oben, heiß mit Nitron gefällt.

Einige auf diese Weise durchgeführte Bestimmungen zeigten jedoch derartig unsichere Ergebnisse, daß in Zukunft die Trennung von Nitrit und Nitrat unterblieb. Dies fiel um so weniger ins Gewicht, als die anderen vergleichenden Methoden, wie z. B. mit Phenolschwefelsäure und Xylenol, ebenfalls Nitrite miterfassen.

4. Nitratbestimmung mit Ferrosulfat-Schwefelsäure.

Der Nachweis von Nitrat mit Ferrosulfat-Schwefelsäure wird wohl meist nur für qualitative Bestimmungen benutzt, jedoch wurde diese Methode wegen der Einfachheit ihrer Ausführung versuchsweise zur quantitativen Bestimmung herangezogen. Oßwald (21) ist es gelungen, für die Bestimmung kleiner Mengen Salpetersäure in technischer Schwefelsäure diese Methode so zu gestalten, daß man auf einfache Weise Nitrat quantitativ ermitteln kann. Er führte seine Messungen in 65—70proz. Schwefelsäure wie folgt kolorimetrisch aus:

50 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit werden in einem zylindrischen Gefäß mit 2 ccm einer Ferrosulfat-Bisulfit-Lösung versetzt. Letztere bestand aus einer wässerigen Lösung, welche 10% technische Bisulfitlösung (38 Bé) und 10% Ferrosulfat ($FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$) enthielt. Der so beschickte Zylinder wird mit einem Gummistopfen fest verschlossen und im Wasserbad 2 Min. lang auf 100° C erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wird die Farbe der Lösung mit Testproben von bekanntem Nitratgehalt verglichen.

Zur Beurteilung der Verwendbarkeit dieser Methode für Nitratbestimmungen in Stallmist wurde zunächst ihre Empfindlichkeit an reinen wässerigen Kaliumnitratlösungen untersucht. Letztere enthielten je 10—1 mg getrocknetes KNO_3 auf 100 ccm. Die Farbtiefen der Reaktionslösungen stimmten mit denen der Testproben überein, während eine weitere Reihe, die 5 bis 0,5 mg KNO_3 pro 100 ccm enthielt, von einem Milligramm abwärts keine Farbunterschiede mehr erkennen ließ. Die Empfindlichkeit dieser Methode

liegt also in reinen Lösungen bei ca. 1—2 mg KNO_3 in 100 ccm. Da diese Grenze für Stalldunganalysen zu hoch liegt, wurde von weiteren Bestimmungen mit Ferrosulfat-Schwefelsäure abgesehen. Es bleibt allerdings zu prüfen, ob diese Methode z. B. für Nitratbestimmungen im Boden, der ja bis zur 10fachen Menge Nitrat enthalten kann, einfacher und damit geeigneter wäre, als die üblichen Bestimmungen nach Foerster oder Ulsch (22).

5. Nitratbestimmung nach der Devardaschen Methode.

Die Reduktion von Nitrat zu Ammoniak kann sowohl in saurer, alkalischer wie auch in neutraler Lösung erfolgen. In saurer Lösung verwendet man z. B. nach Ulsch (22) zur Entwicklung von elementarem Wasserstoff Schwefelsäure und Eisenpulver. Durch überschüssige Natronlauge wird dann das gebildete Ammoniumsulfat zu Natriumsulfat und freiem Ammoniak umgesetzt und letzteres wie üblich titrimetrisch bestimmt. In alkalischer Lösung kann man das Nitrat nach Jodlbauer-Böttcher (22) reduzieren. Der Einfachheit halber benutzt man jedoch häufiger die Reduktion in neutraler Lösung mit der Aluminium-Magnesium-Legierung von Arndt oder der Kupfer-Zink-Aluminium-Legierung von Devarda. Dieses Arbeiten in neutraler Lösung hat den Vorteil, daß bei Untersuchungen von Lösungen, die neben Nitrat auch organisch gebundenen Stickstoff enthalten, wie es z. B. in Düngeranalysen der Fall ist, aus labilen Verbindungen mit Amidgruppen nicht Ammoniak ausgetrieben wird und dann einen höheren Nitratgehalt vortäuscht. Aber auch bei der Reduktion des Nitrates in neutraler Lösung würde in Stalldunganalysen das ursprünglich vorliegende Ammoniak mitbestimmt werden. Daher muß es vor der Nitratbestimmung entfernt werden.

Die Methode der Reduktion mit Devardascher Legierung wurde nun wie folgt variiert:

5 g Frischmist wurden in einem 300-ccm-Erlenmeyer-Kolben mit etwa 150 ccm destilliertem Wasser und 2—3 g Magnesia usta versetzt und unter dem Abzuge solange erhitzt, bis ein über den Kolben gehaltener Salzsäuretropfen keine Trübung mehr zeigte, das Ammoniak also restlos entfernt war. Um Verluste zu vermeiden, wurden nach dem Abkühlen 2 g Devardasche Legierung gleich demselben Kolben zugesetzt, und dieser bei kleinster Flamme 3/4 Std. erhitzt. Der Anschluß an die Destillationsapparatur erfolgte sofort nach dem Zusetzen der Legierung.

Wie die Ergebnisse der nach dieser Methode durchgeführten Untersuchungen in Tab. 12 und 13 zeigen, wurden in 39 von 42 Fällen, und zwar meist bedeutend höhere Werte gefunden als nach der Xylenol-Methode. Nach Wiegner (23) besteht die Möglichkeit, daß auch durch Magnesiumoxyd Verbindungen mit Amidgruppen, wie sie ja im Stalldünger als Eiweißstoffe und deren Abbauprodukte zahlreich vorliegen, als Ammoniak abgespalten werden können und so die Nitratbestimmung stören. Gemessen an den Werten der Xylenol-Methode zeigen jedoch diejenigen nach Devarda die geringsten Differenzen, so daß in der vorliegenden Arbeit fast sämtliche Bestimmungen auch mit dieser Methode vorgenommen wurden. Für eine exakte Nitratbestimmung in Stalldünger reicht jedoch die Reduktionsmethode mit Devardascher Legierung ebensowenig aus wie die unter 1.—4. behandelten.

6. Nitratbestimmung volumetrisch als Stickstoff.

Die ursprünglich von Schlösing stammende volumetrische Art der Nitratbestimmung als Stickoxyd wurde u. a. auch von Andreadis (24) für Nitratnachweis in Tabakblättern angewandt und von ihm verbessert.

Nach Schlösing wurde ferrochloridhaltige Salzsäure solange in einem Kolben, der an eine Gasmeßapparatur angeschlossen war, erhitzt, bis dieselbe luftfrei war. Durch einen Tropftrichter fügte man die zu untersuchende Flüssigkeit in den Kolben und fing das sich nun entwickelnde Stickoxyd unter Wasser in einer Gasbürette auf. Andreadis sah z. B. für die Untersuchung von Tabakblättern eine Fehlerquelle darin, daß das aus der Zersetzung des in den Blättern enthaltenen Pektins entstehende Kohlendioxyd volumetrisch miterfaßt wird. Dadurch wird immer ein zu hoher Gehalt an Nitrat vorgetäuscht. Diesen Fehler schaltet er dadurch aus, daß er das gebildete Gas nicht wie Schlösing durch Wasser, sondern durch Kalilauge leitete, welche dann auch gleichzeitig die Absperrflüssigkeit für das Meßrohr bildete. Seine vergleichenden Untersuchungen rechtfertigen diese Maßnahme, denn seine hiermit erhaltenen Nitratwerte sind, besonders bei nitratarmen Tabaksorten, wesentlich niedriger als die bis dahin in der Literatur angebenen.

Da auch bei der Düngerrotte immer eine Pektinzersetzung zu beobachten ist (25), so war bei der Anwendung dieser Methode für Düngersubstanz ebenfalls die Entfernung des CO_2 erforderlich. Die Düngergase bestehen aus ungefähr gleichen Teilen Kohlendioxyd und Methan (26). Letzteres würde zwar von der vorgelegten Kalilauge nicht absorbiert bzw. umgesetzt werden, es könnte aber trotzdem die Bestimmung des Stickoxydvolumens nicht stören, da es erstens von oxydierenden Stoffen, wie hier z. B. Salpetersäure, nicht oder nur sehr langsam angegriffen wird, und zweitens durch das gebildete freie Chlor in folgenden Stufen zu CH_3Cl, CH_2Cl_2 und CCl_4 chloriert wird:

$$CH_4 + 2\ Cl = CH_3Cl + HCl$$
$$CH_3Cl + 2\ Cl = CH_2Cl_2 + HCl \text{ usf.}$$

In folgender Weise wurde nun diese Methode für die Untersuchung von Stalldünger abgeändert:

50,0 g getrockneter und gepulverter Mist wurden mit einem Liter 40proz. Alkohol, der mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht war, versetzt und 1 Std. lang mit Rückflußkühler auf dem Wasserbad gekocht. Nach dem Abkühlen wurde der Kolbeninhalt filtriert, und dieses Filtrat, obgleich es schon fast klar erschien, 10 Min. lang zentrifugiert, gemessen und gewogen. Ein aliquoter Teil davon wurde auf dem Wasserbad annähernd zur Trockne eingedampft, mit etwas destilliertem Wasser aufgenommen und filtriert. Nach wiederholtem Nachwaschen wurde das Filtrat auf ein bestimmtes Volumen gebracht, auf welches bei der späteren Berechnung zurückgegangen wird.

Die vorstehend beschriebene Apparatur wird alsdann mit dieser, durch Kochen luftfrei gemachten Untersuchungsflüssigkeit beschickt und 1 Std. lang das entweichende Gas aufgefangen. Die genaue Messung unter Berücksichtigung der Temperatur und des äußeren Luftdruckes sowie die Berechnung des Normalvolumens von NO in völlig trockenem Zustande erfolgt wie üblich nach der Formel:

$$V\frac{760}{0} = \frac{V\frac{p}{t}(p-s)}{760\ (1 + 0{,}003\,665 \cdot t)},$$

wobei $V\frac{760}{0}$ das Normalvolumen, $V\frac{p}{t}$ das abgelesene Volumen von NO, p der Barometerstand und t die Temperatur darstellen. s bezeichnet die Tension des Wasserdampfes bei t^0 C.

Der chemische Vorgang dieser Bestimmung beruht auf folgenden Umsetzungen:

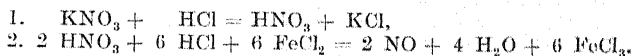
1. $KNO_3 + HCl = HNO_3 + KCl,$
2. $2\ HNO_3 + 6\ HCl + 6\ FeCl_2 = 2\ NO + 4\ H_2O + 6\ FeCl_3.$

Um festzustellen, wie empfindlich diese Art der Bestimmung, verglichen mit der im nächsten Abschnitt beschriebenen Xylenol-Methode, ist, wurden an einer Reihe im hiesigen Institut untersuchter Dünger beide Methoden nebeneinander durchgeführt. Die Ergebnisse in Tab. 5 zeigen, daß die Abweichung im Durchschnitt 0,083 mg Nitrat-N pro 100 g Frischmist beträgt, somit also eine verhältnismäßig gute Übereinstimmung beider Methoden festgestellt werden konnte. Aus Gründen der Einfachheit wurde jedoch in den späteren Untersuchungen diese recht umständliche Methode nicht mehr durchgeführt.

Tabelle 5.

Stalldung Nr.	Nitratstickstoff in 100 g Frischmist nach Xylenolm.	Nitratstickstoff in 100 g Frischmist nach vol. Meth.	Differenz
1	0,000 61	0,000 522	— 0,000 088
2	0,000 33	0,000 232	— 0,000 098
3	0,001 00	0,000 917	— 0,000 083
4	0,000 26	0,000 328	+ 0,000 068
5	0,000 30	0,000 378	+ 0,000 078
	Durchschnittliche Abweichung:		± 0,000 083

7. Nitratbestimmung photometrisch als Nitroxylenol.

Die Originalarbeiten von Blom und Trechow (27) über die Bestimmung von Nitrat als Nitroxylenol wurden in neuester Zeit von Alten, Wandrowsky und Hille (28) einer kritischen Nachprüfung unterzogen. Gleichzeitig wurde die Verwendbarkeit der Methode für Pflanzensubstanzen geprüft. Die Ergebnisse lassen erkennen, daß unter den von ihnen vorgeschriebenen Bedingungen eine einwandfreie Bestimmung von Nitrat, selbst in Anwesenheit bis zu 1 g organischer Substanz, möglich ist. Der Vorteil dieser Feststellung liegt gerade in bezug auf die Untersuchung von organischem Dünger darin, daß auf diese Weise mannigfache Operationen, die dazu dienen, die organische Substanz im Untersuchungsmaterial zu beseitigen, überflüssig und dadurch viele Fehlerquellen vermieden werden. An Hand zahlreicher Versuche beweisen die Autoren, daß es möglich ist, in einem organischen Material noch sichere Werte im Bereich von 0,05—5 mg N_2O_5 pro 100 g Substanz zu erzielen.

Die Übertragung dieser Methode auf die Düngeranalyse gab folgendes zu bedenken: Die Werte der Xylenolbestimmungen treten als Extinktionskoeffizienten von Farblösungen mit bestimmter Konzentration und damit als relative Zahlen in Erscheinung. Darum ist es notwendig, neben den eigentlichen Bestimmungen solche mit einer Standardprobe zu machen, deren Konzentration bekannt ist und dessen entsprechende Extinktionskoeffizienten vorher ermittelt wurden. Für Substanzen, die nicht nur eine reine wässerige Lösung ergeben, sondern jeweils eine andere Eigenfarbe besitzen, ist außerdem immer eine Blindprobe in Abzug zu bringen.

Alten, Wandrowsky und Hille (28) benutzten als Blindproben Untersuchungsmaterial, das unter völlig gleichen Bedingungen, nur ohne Zusatz von Xylenol, behandelt wurde. Als Beweis der Brauchbarkeit ihrer für die Bestimmung von Pflanzenteilen abgeänderten Nitroxylenol-Methode bringen die Verff. mehrere Bestimmungen einer Substanz, die ursprünglich nitratfrei war und mit steigenden Mengen KNO_3 ver-

setzt wurde. Die Ergebnisse zeigen Abweichungen von 5,6% des theoretischen Wer[illegible], was für diese Bestimmungen durchaus als gut zu bezeichnen ist. Sie benutzten [illegible] diese Prüfungen Bohnenmehl, welches nach den Untersuchungen von Treeho[illegible] und Gabrielsen (29) nicht eine Spur von Nitrat enthielt.

Die Nitratbestimmung in Mist bzw. Mistextrakt erfordert ebenfalls ein Vergleichsobjekt, das nachweislich unter tunlichst gleichen Eigenschaften wie das Untersuchungsmaterial kein Nitrat enthält. Schon bei den orientierenden, qualitativen Untersuchungen mit Diphenylamin und Phenolschwefelsäure wurde festgestellt, daß es unmöglich ist, an Hand von bekannten Nitratzugaben eine Kontrollprobe zu bekommen. Es lag aus diesem Grunde nahe, die Möglichkeit hier heranzuziehen, mit Hilfe von Nitron eine Lösung nitratfrei zu machen. Die Prüfung auf die Empfindlichkeit der Nitronausfällung hat gezeigt, daß bei möglichst niedrigen Temperaturen (0—2° C) noch Nitratlösungen von der Konzentration 1 : 100 000 sichere Ausfällungen ergeben. Die bei der Durchführung der Nitron-Methode als störend empfundenen Stoffe können hierbei unberücksichtigt bleiben, da es sich gezeigt hat, daß sie, außer den Halogenen, die Farbreaktion des Nitroxylenols mit der vorgelegten Natronlauge nicht beeinflussen. Für die quantitative Bestimmung wird an Hand einer Reihe von bekannten Nitratlösungen, wie sie auch die erwähnten Autoren benutzten, eine Standardkurve ermittelt. An dieser kann nach Subtraktion des Blindversuches der Nitratgehalt der zu bestimmenden Substanz abgelesen werden.

Die Durchführungen unterscheiden sich von den Bestimmungen in Pflanzensubstanzen wie folgt:

1. Die Art des Untersuchungsobjektes bedingt eine mehr oder minder große Ungleichmäßigkeit der entnommenen Probe. Außerdem muß wegen der zu erwartenden geringen Menge des Nitrates mit einer größeren Einwage gearbeitet werden. Hierdurch erhöht sich die untere Erfassungsgrenze einerseits und verbessern sich die Werte in Richtung auf den Durchschnitt andererseits.

2. Das in den Pflanzen enthaltene Nitrat befindet sich ausschließlich innerhalb der Zellen und wird bekanntlich darin sehr festgehalten. Das im Stallmist vermutete Nitrat dagegen, das hauptsächlich aus Abbauprodukten von Eiweiß auf biologischem oder chemischem Wege entstanden zu denken ist, befindet sich lediglich außerhalb der Zellen und kann daher leichter extrahiert werden.

Die Filtrate von Mistextrakten mit destilliertem Wasser waren stets trübe und enthielten eine Menge kolloidgelöster Stoffe, deren Anwesenheit als besonders störend empfunden wurde, da sie fast jedes Filter passierten und beim Einengen des Extraktes den Gehalt an organischer Substanz erheblich über das von Alten, Wandrowsky und Hille angegebene Maß erhöhten. Dementsprechend zeigten Messungen, die mit diesem Ausgangsmaterial ausgeführt wurden, völlig unberechenbare Abweichungen und Werte. Es mußte versucht werden, durch Beseitigung der störenden Kolloide, unter Vermeidung von Nitratverlusten klare Filtrate zu erzielen. Die eingangs erwähnten Klärmittel, die für die qualitativen Prüfungen mit Diphenylamin Verwendung fanden, wie Bolus, Kohle usw., hatten sich als mehr oder weniger unbrauchbar erwiesen, da sie Nitrate absorbierten. Es wurde nun versucht, durch Zusatz eines Elektrolyten die Aggregation und damit die Filtrierbarkeit zu vergrößern, wobei die Zugabe einer 2proz. Kupfersulfatlösung als sehr geeignet befunden wurde. In Zukunft wurde der zu unter-

suchende Dünger immer mit dieser Lösung durch Kochen extrahiert. Zusammengefaßt gestaltete sich die Bestimmung in folgender Weise:

100 g Frischmist wurden in einem Liter einer 2proz. Kupfersulfatlösung 5 Min. lang gekocht und durch ein Hartfilter (Schleicher & Schüll, Nr. 605) in einen Literkolben filtriert, mit heißem, destilliertem Wasser nachgewaschen und nach dem Erkalten zur Marke aufgefüllt. Sechs aliquote Mengen werden in Erlenmeyer-Kolben mit 1proz. Natriumkarbonatlösung bis zum Neutralpunkt abgestumpft und auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Kolben 1 und 2, die mit Hilfe der oben beschriebenen Nitronausfällung nitratfrei gemacht werden sollen, erhitzt man mit ca. 20 ccm Wasser und 20 Tropfen verdünnter Schwefelsäure bis fast zum Sieden, filtriert und fällt in dieser klaren Lösung das Nitronnitrat aus. Hierbei ist die Temperatur von 0—2° C einzuhalten. Diese zwei von Nitrat befreiten Proben werden nochmals zur Trockne eingedampft und anschließend wie die Kolben 3 und 4 mit Xylenol behandelt.

Alten u. a. hatten gefunden, daß das Xylenol am besten in 66 vol.-proz. Schwefelsäure nitriert würde, daher wurden alle Kolben, mit Ausnahme von 5 und 6, die als Blindproben parallel bestimmt wurden, mit 25 ccm dieser Säure versetzt und nach Zugabe von je 0,2 ccm Xylenol (Merck) mit Gummistopfen verschlossen und 20 bis 30 Min. bei Zimmertemperatur zur Nitrierung stehengelassen. Die weitere Behandlung hielt sich eng an die von obigen Autoren ausgearbeiteten Vorschriften. Nach dem Verdünnen des Nitriergemisches mit 60 ccm destilliertem Wasser erfolgte die Destillation in eine Vorlage von 15 ccm N/5 Natronlauge, die sich in einem 100 ccm-Meßkolben befand. Das gebildete Nitroxylenol geht zu Beginn der Destillation sofort über und löst sich in der Vorlage mit rötlicher bis gelblicher Farbe, deren Intensität von der Menge des gebildeten Nitroxylenols abhängig ist. Nach Beendigung der Destillation werden die Liebig-Kühler mit 15 ccm obiger Natronlauge in zwei Portionen nachgespült und die Kolben mit den Farblösungen mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Damit sind sie fertig für die Absorptionsmessung, welche mit dem Zeissschen Pulfrich-Photometer ausgeführt wurde.

Die Werte der einzelnen Kolben haben also folgende Bedeutung: Kolben 1 und 2 enthalten die Lösungen, deren Farbtiefe und daraus resultierender Extinktionskoeffizient auf Reaktionen aller im Düngerextrakt vorliegender Stoffe, außer Nitrat, mit Xylenol beruhen. Die Farbreaktionen in den Kolben 3 und 4 schließen außerdem noch die Farbe des gebildeten Nitroxylenols ein. Die Kolben 5 und 6 dagegen bilden Farblösungen, deren Tiefe durch ursprünglich mitextrahierte und überdestillierte Stoffe bestimmt ist; dieser Wert muß also als der der Eigenfarbe in Abzug gebracht werden.

Bei den Photometermessungen der Lösungen 3 und 4 werden die Küvetten von 5 und 6 als Kompensation vor die zweite Photometeröffnung eingesetzt und so in einfacher Weise die Ausschaltung der Eigenfarbe erreicht. Von dem hierbei abzulesenden Extinktionskoeffizienten ist noch der der Lösungen 1 und 2 in Abzug zu bringen und man hat nun den reinen Nitratkoeffizienten, von dem der entsprechende KNO_3-Gehalt in der Standardkurve abzulesen ist.

Das im Handel befindliche Xylenol mußte jeweils auf seinen Nitrifikationsfaktor geprüft werden. Dies geschah mit Hilfe einer N/1-Kaliumnitratlösung[1]). Der Faktor bewegte sich zwischen 1,16 und 1,07 und wurde bei allen Bestimmungen berücksichtigt. Mit einem Teil dieser Lösungen wurde das für diese Farbe optimale Filter des Photometers ausgewählt, es war dies das Blaufilter, welches auch für alle späteren Messungen verwendet wurde. Bei den Untersuchungen an mehreren anderen Filtern hatte es sich gezeigt, daß die Farblösungen nicht streng das Beer-Lambertsche Absorptionsgesetz erfüllten, denn nach diesem müßten die Kurven aller Filter parallel verlaufen und sich nur in dem Zahlenwert des Koeffizienten unterscheiden. Folglich war eine Berechnung der Konzentration der Nitroxylenollösungen nach der sonst gebräuchlichen Formel obigen Gesetzes nicht möglich. Es blieb nur die Möglichkeit, die Aus-

[1]) Als Vergleichslösungen wurden Nitroxylenol-Urstandardlösungen nach Angaben von Blom und Trechow (27) hergestellt.

wertung mit einer empirisch ermittelten Eichkurve vorzunehmen. Diese ist in Abb. 1 wiedergegeben.

Die Auswahl der Schichtdicke der Küvetten wurde in jedem einzelnen Falle durch die Tiefe der Farblösungen bestimmt, weil nur zwischen 5 und 70% Extinktion eine exakte Bestimmung möglich ist, da außerhalb dieses Bereiches erhebliche Störungen durch sog. entoptische Erscheinungen auftreten.

In Tab. 6 sowie in Abb. 1 sind die Werte der Messungen mit einer Reihe bekannter Nitratlösungen zu ersehen. Die Rubrik 4 zeigt den aus den übrigen Extinktionskoeffizienten errechneten Wert für 0,1 mg N_2O_5 pro 100 g, während die Rubrik 5 die prozentualen Abweichungen vom Mittelwert angibt. Danach ergibt sich eine Abweichung von $\pm$ 2,19%. Wenn diese auch etwas hoch erscheint, so ist zu berücksichtigen, daß das Photometer selbst bei

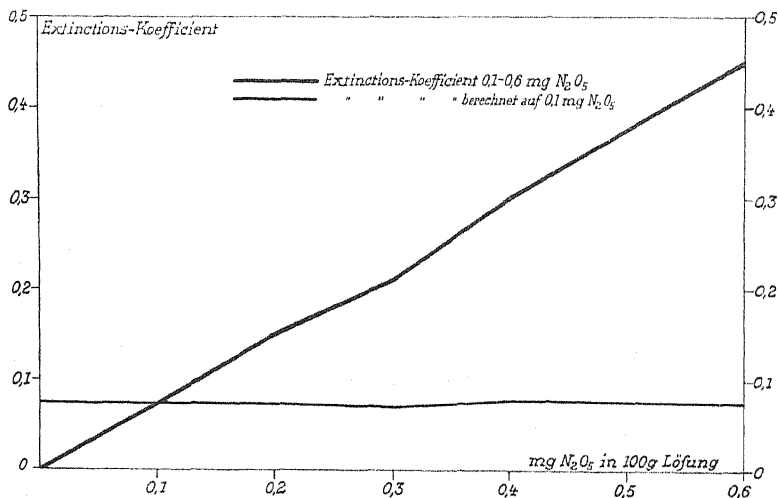



Abb. 1. Standardkurve einer Nitratlösung. (Blaufilter, 3 cm Küvette.)

optimalem Filter für den Punkt gleicher Helligkeit beider Gesichtsfelder nicht einen eindeutigen Wert anzeigt, sondern innerhalb einer kleinen Zone eine Ablesung zuläßt. Aus den Arbeiten oben genannter Autoren ist außerdem bekannt, daß die Farbe der Lösung sich während der Untersuchung immer etwas verändert.

Tabelle 6.

1	2	3	4	5
Nr.	mg N_2O_5 in 100 g	Ext.-Koeff. (Küv. 3 cm)	Ext.-Koeff. ber. auf 0,1 mg	Differenz v. Mittelwert in %
1	0,05	0,037	0,074	+ 0,81
2	0,10	0,072	0,072	— 1,908
3	0,20	0,148	0,074	+ 0,810
4	0,30	0,210	0,070	— 4,630
5	0,40	0,302	0,0755	+ 2,86
6	0,50	0,375	0,075	+ 2,18
		Mittelwert:	0,0734	$\pm$ 2,19%

Vergleicht man zusammenfassend die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit der Xylenol-Methode mit den übrigen, so ist diese, jedenfalls für die Nitratbestimmung in Stalldünger, allen anderen vorzuziehen. Wenn in den folgenden Untersuchungen daneben auch die Methode nach Devarda sowie die mit Phenolschwefelsäure Verwendung fanden, so hatte dies lediglich den Zweck, zu veranschaulichen, was für Fehlschlüsse, gerade in bezug auf das Vorhandensein von Nitraten im Dünger, aus ungenauen Bestimmungsmethoden gezogen werden können.

II. Untersuchungen über Nitratbildung unter verschiedenen Bedingungen.

Wie schon eingangs erwähnt, werden von vielen Autoren u. a. die Wechselbeziehungen von Nitratbildung und Denitrifikation für die Stickstoffverluste im Stalldünger verantwortlich gemacht (17, 18, 19). Leider ist jedoch diese für die Landwirtschaft so wichtige Frage noch nicht restlos geklärt. Zweifellos ist dies u. a. darin begründet, daß die Verschiedenartigkeit des Untersuchungsobjektes, wie sie durch wechselnde anfängliche Zusammensetzung sowie durch nachträgliche äußere Beeinflussung zustande gekommen ist, niemals ein Arbeiten mit konstanten Faktoren ermöglicht. Nicht zuletzt sind aus diesem Grunde auch Vergleiche von Ergebnissen verschiedener Autoren, die unter jeweils anderen Bedingungen erzielt wurden, nur unter Vorbehalt berechtigt.

Um den Verlauf bzw. die Möglichkeit einer Nitratbildung unter genau kontrollierbaren äußeren Faktoren studieren zu können, wurden die folgenden Bestimmungen an Gefäßversuchen im Laboratorium ausgeführt. Der Zweck dieser Versuchsreihen war also erstens festzustellen, unter welchen Bedingungen die Nitrabildner leben können, und zweitens zu prüfen, ob die Menge des im Mist nachweisbaren Nitrates in irgendeine Beziehung zu anderen Stickstoffverbindungen oder zu der Anzahl der Nitratbildner gesetzt werden kann.

1. Untersuchungen über Nitratbildung in künstlich hergestellten Düngern.

Die tierischen Exkremente, nämlich Rinderfäzes und Harn, aus denen der Dünger gemischt werden sollte, wurden unter sterilen Bedingungen von Tieren des hiesigen Rassestalles entnommen. Vor dem Mischen mit dem gleichfalls dorther stammenden sauberen Streustroh wurden alle drei Bestandteile sowohl auf die Anwesenheit von Nitrat, als auch auf Nitrifikationsbakterien geprüft. Die chemischen Bestimmungen erfolgten nach der Xylenol- und nach der Devardaschen Methode. Die Zählung der Nitrifikationsbakterien wurde hier, wie auch in allen anderen Versuchen, nach der von Niklewsky benutzten Verdünnungsmethode mit anorganischen Nährlösungen (30), allerdings in dezimalen Verdünnungsstufen, durchgeführt. Als Reagens auf die Nitrifikationsprodukte benutzte ich Diphenylbenzidin, welches ungefähr 15—20 mal so empfindlich ist wie Diphenylamin (siehe S. 113). Die Ergebnisse sind in Tab. 7 wiedergegeben. Wie aus ihnen ersichtlich ist, ließen sich am Anfang weder im Harn, noch im Kot, wie auch zu erwarten war, Nitratbildner nachweisen. Im Stroh ergaben 2 von 5 Parallelen minimale Mengen. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Befunden der umfangreichen Arbeiten von Niklewsky (30), welche besagen, daß, falls überhaupt, nur im Stroh ursprünglich Nitratbildner in geringen Mengen zu finden sind. Wenn man hierbei berücksichtigt, daß das Stroh gewichtsmäßig nur

etwa den 13. Teil des fertigen Düngers ausmacht, so ist die Menge der auf diese Weise zugeführten Bakterien verhältnismäßig klein. Bietet ihnen jedoch der Stalldünger zusagende Entwicklungsbedingungen, so bedeutet die Strohbeimengung eine ganz beträchtliche Impfmenge.

Tabelle 7.

Material	Gehalt an Nitratstickstoff berechnet auf 100 g Frischsubstanz		Mindestzahl von Nitratbildnern in 1 g Substanz
	nach Devarda	nach Xylenol	
Steril entnommener Rinderkot . .	0,000 42	0,000 00	0
Steril entnommener Rinderharn .	0,000 67	0,000 00	0
Sauberes Streustroh	0,000 06	0,000 04	100
Nach Mischen der 3 Bestandteile	0,000 18	0,000 008 (prakt. = 0)	10

Der so bereitete Dünger wurde unter Temperaturen von 15—20, 45 und 75° C sowohl unter anaeroben (Methode von McIntosh-Fildes) als auch unter regelmäßig belüfteten Verhältnissen (31) 3 Monate lang aufbewahrt und nach 2, 5 und 12 Wochen geprüft. Die Temperaturen waren, abgesehen von der kurzen Zeit der Probeentnahmen, konstant.

In der folgenden Tab. 7a sind die in regelmäßigen Abständen ermittelten Nitratwerte sowie die Keimzahlen der Nitratbildner den von Junghähnel (31) in demselben Material ermittelten Ammoniakwerten gegen-

Tabelle 7a.

Dauer des Versuchs in Wochen	Temperatur ° C	g Nitrat-N auf 100 g		g Ammoniak-N auf 100 g	Nitratbildner in 1 g Stalldung
		nach Devarda	nach Xylenol		
		Belüftete Proben			
0	15—20	0,000 18	0,000 008	0,050	10
2	15—20	0,000 32	0,000 080	0,059	500
2	45	0,000 21	0,000 020	0,129	500
2	75	0,000 64	0,000 210	0,103	1 000
5	15—20	0,000 65	0,000 320	0,073	20 000
5	45	0,000 29	0,000 081	0,050	10 000
5	75	0,000 22	0,000 090	0,064	0
12	15—20	0,000 74	0,000 291	0,076	25 000
12	45	0,000 25	0,000 098	0,045	12 000
12	75	0,000 18	0,000 000	0,050	0
		Unbelüftete Proben			
0	15—20	0,000 18	0,000 008	0,050	10
2	15—20	0,000 11	0,000 063	0,081	1 000
2	45	0,000 08	0,000 040	0,109	5 000
2	75	0,000 30	0,000 100	0,109	0
5	15—20	0,000 06	0,000 030	0,092	500
5	45	0,000 05	0,000 035	0,100	500
5	75	0,000 31	0,000 098	0,117	0
12	15—20	0,000 03	0,000 010	0,015	0
12	45	0,000 034	0,000 029	0,064	0
12	75	0,000 21	0,000 000	0,120	0

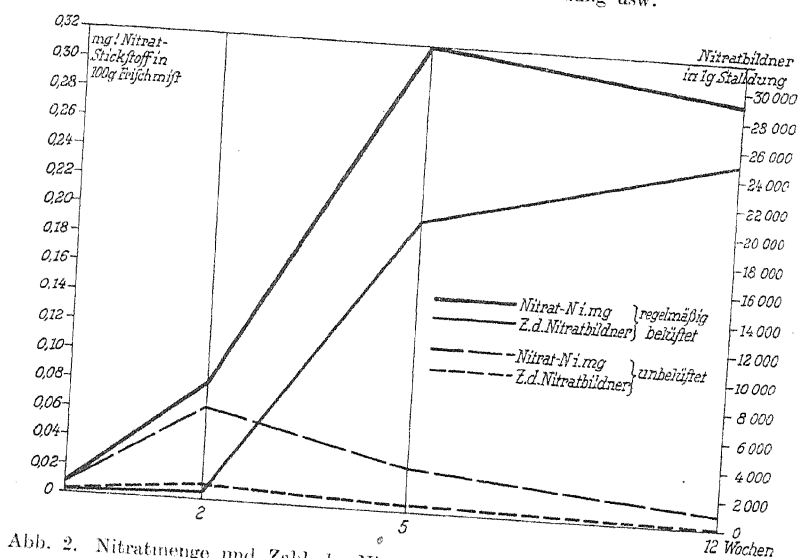



Abb. 2. Nitratmenge und Zahl der Nitratbildner von künstlich hergestelltem Dung, nach 2, 5 und 12 Wochen, teils belüftet, teils unbelüftet. Temperatur 15—20° C.

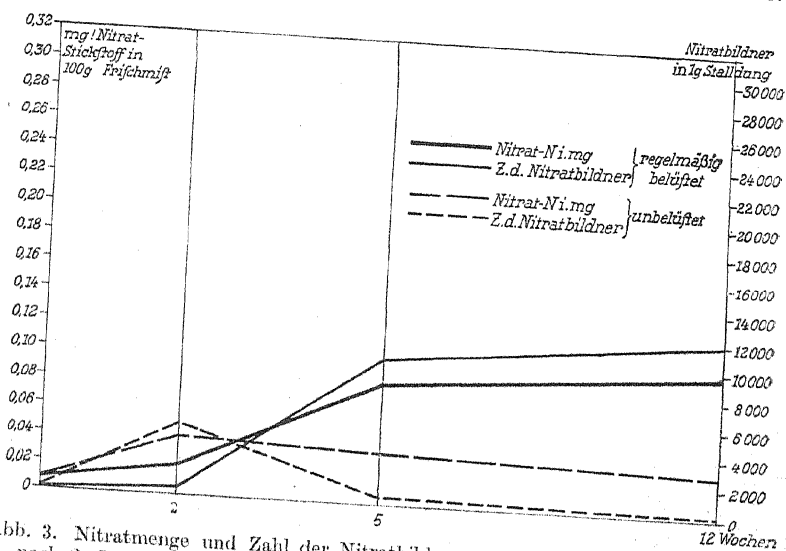



Abb. 3. Nitratmenge und Zahl der Nitratbildner von künstlich hergestelltem Dung, nach 2, 5 und 12 Wochen, teils belüftet, teils unbelüftet. Temperatur 45° C.

übergestellt. Auch hier sind wieder, lediglich zum Vergleich, neben den Xylenolwerten auch die nach Devarda aufgeführt. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in den Abb. 2—5 veranschaulicht.

Nach zweiwöchiger Lagerung mit Belüftung bei 15—20° C stieg der Nitratstickstoffgehalt von 0,008 mg auf 0,08, während der Ammoniakstickstoffgehalt von 0,05 g auf nur 0,059 g zunahm. Nach weiteren 3 Wochen zeigte dasselbe Material die starke Nitrat-N-Zunahme auf 0,32 mg, während

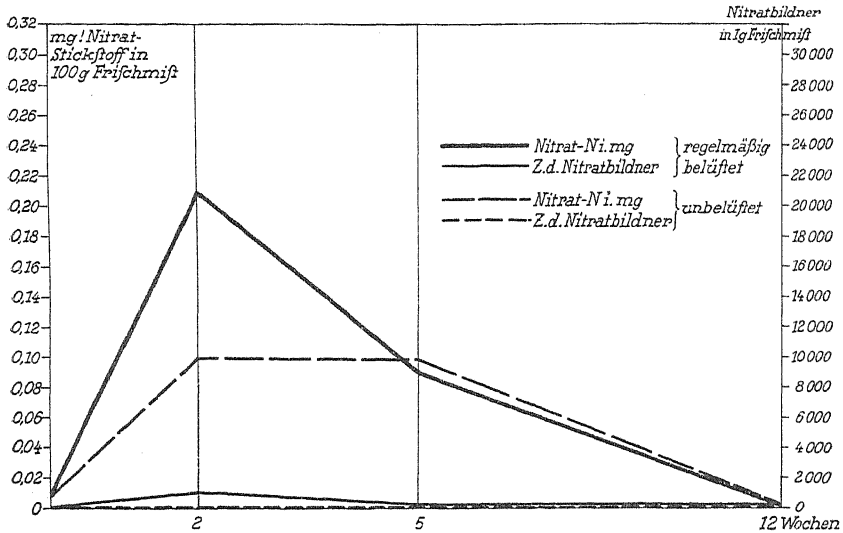



Abb. 4. Nitratmenge und Zahl der Nitratbildner von künstlich hergestelltem Dung nach 2, 5 und 12 Wochen, teils belüftet, teils unbelüftet. Temperatur 75° C.

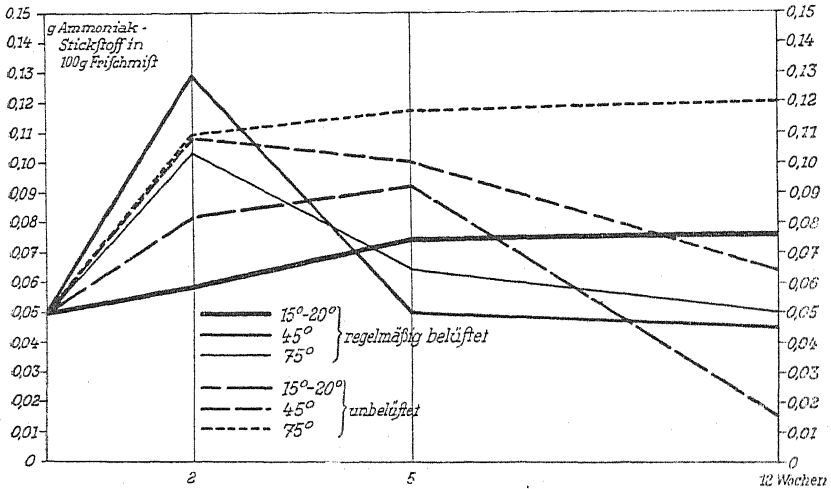



Abb. 5. Ammoniak-Stickstoff-Werte von künstlich hergestelltem Dung, der bei 15—20, 45 und 75° teils belüftet, teils unbelüftet, nach 2, 5 und 12 Wochen untersucht wurde.

gleichzeitig der Ammoniakwert auf 0,073 g folgte. Nach der 12. Woche wurde etwas weniger Nitrat gefunden, und zwar 0,291 mg. Der Gehalt an Ammoniak war etwas gestiegen, er betrug 0,076 g.

Die bei derselben Temperatur unter anaeroben Verhältnissen gehaltene Probe zeigte nach 2 Wochen eine Erhöhung des Nitratstickstoffes auf nur 0,063 mg. Der entsprechende Ammoniakwert betrug 0,081 g. 3 Wochen später jedoch zeigte sich nur noch etwa die Hälfte des vorherigen Nitrates, 0,03 mg, dagegen eine Zunahme von Ammoniak auf 0,092 g. Nach 12 Wochen

war die Nitratmenge bis fast auf die ursprüngliche Höhe gesunken, nämlich auf 0,01 mg, indessen der Ammoniakgehalt sogar mit 0,015 g unter seiner Anfangshöhe lag.

Bei der Belüftung unter 45° konnten nach den ersten 2 Wochen nur 0,02 mg Nitrat-N, dagegen die sehr starke Zunahme von Ammoniak-N auf 0,129 g festgestellt werden. Später hatte sich der Nitratgehalt auf 0,081 mg erhöht und gleichzeitig war der Ammoniakgehalt wieder auf 0,05 g zurückgegangen. Am Schluß der 12. Woche war die Entwicklung in gleicher Richtung weitergegangen, nämlich das Nitrat war auf 0,098 mg gestiegen und Ammoniak auf 0,045 g gesunken.

Die anaerob gehaltene Parallele enthielt nach 14 Tagen 0,04 mg Nitrat-N und den auf 0,109 mg stark erhöhten Ammoniakgehalt. Von dem Nitrat waren nach 3 weiteren Wochen nur noch 0,035 mg zu finden, wogegen der Ammoniakwert mit 0,100 g fast auf gleicher Höhe geblieben war. Am Ende der 12 Wochen war der Gehalt an Nitrat weiter auf 0,029 mg und das Ammoniak ebenfalls auf 0,064 g zurückgegangen.

Das bei 75° C belüftet aufbewahrte Material überraschte nach 14 Tagen durch den bis dahin höchsten Nitratgehalt von 0,21 mg N, wobei auch der Ammoniakwert auf 0,103 g angestiegen war. 3 Wochen später wurde dagegen ein starkes Abfallen des ersteren auf 0,09 mg und ebenfalls ein Sinken des Ammoniaks auf 0,064 g N beobachtet. 12 Wochen nach dem Ansetzen war das Nitrat restlos verschwunden und die Ammoniakmenge auf ihre Anfangshöhe von 0,050 g gesunken.

Die unbelüftete Vergleichsprobe hatte bei dieser Temperatur nach 2 Wochen 0,10 mg Nitrat-N und ähnlich wie die belüftete Parallele 0,109 g Ammoniak-N aufzuweisen. Nach 5 Wochen fand sich noch nahezu derselbe Nitratwert, nämlich 0,098 mg N, aber eine weitere Vermehrung des Ammoniakstickstoffes auf 0,117 g. Das Ergebnis der nach 12 Wochen geprüften Nitratmenge hatte denselben negativen Erfolg wie bei der aeroben Parallele, auch hier war keine Spur mehr nachzuweisen, wogegen der Ammoniak-N weiter bis auf 0,120 g zugenommen hatte.

Vergleicht man an Hand der Kurven diese Ergebnisse mit den entsprechenden Zahlen der Nitratbildner, so ergibt sich folgendes Bild:

Außer in dem bei 75° C unbelüftet gehaltenen Dünger haben sich die Nitratbakterien in allen Proben während der ersten 2 Wochen vervielfacht. Die größte Höhe erreicht nach dieser Zeit mit 5000 Keimen die unbelüftete Probe bei 45°, deren Nitratgehalt jedoch mit 0,04 mg an zweitniedrigster Stelle steht. Nach 5 Wochen zeigen alle unbelüfteten Dünger teils ein vollständiges, teils ein sehr starkes Zurückgehen der Keimzahlen, während von den belüfteten Parallelen die 15—20° C- und die 45° C-Probe darin eine wesentliche Zunahme bis auf 20 000 bzw. 10 000 feststellen lassen. In diesen beiden Versuchen zeigen die nachgewiesenen Nitratmengen eine ganz ähnliche Tendenz wie die Zahlen der Nitrifikationsbakterien, wogegen z. B. die unbelüftete Reihe bei 75° C, in welcher niemals Nitratbildner nachgewiesen werden konnten, überraschenderweise 5 Wochen lang deutliche Mengen von Nitrat erkennen ließ. Ebenso unerwartet ist das Ergebnis eines Vergleiches zwischen Nitratmengen und Nitrifikationsbakterien des aeroben 75° C-Düngers. Darin steigt die Keimzahl wohl in 14 Tagen unwesentlich an, wir finden jedoch nach derselben Zeit mit 0,210 mg den für diesen Zeitpunkt höchsten Gehalt an Nitratstickstoff. Daraus ergibt sich die Tatsache, daß die nachweisbare

Anzahl der Nitratbildner weder einen Schluß auf den augenblicklichen Nitratgehalt eines Düngers, noch auf früher stattgefundene Nitrifikation ermöglicht.

Eine Gegenüberstellung der Ammoniak- und Nitratstickstoffwerte zeigt, daß der Verlauf ihrer Kurven annähernd gleiche Tendenz hat. Eine Ausnahme bildet hier die bei 45° C belüftet gehaltene Probe. Vergleicht man die Menge der Nitratbakterien mit dem Ammoniak-N-Gehalt, so ist zu erkennen, daß, abgesehen wieder von dem erwähnten Dünger von 45° C, unter allen anderen Bedingungen eine gewisse Parallelität dieser beiden Werte vorliegt. In 5 Düngern läßt sich beim Steigen des Ammoniakgehaltes ein Anwachsen der Zahl nitrifizierender Bakterien nachweisen und umgekehrt, während die Kurven des bei 45° C bebrüteten, belüfteten Düngers gegensätzlich verlaufen. Durch diese Feststellung ist allerdings noch nicht erkennbar, ob zwischen diesen beiden Vorgängen ein kausaler Zusammenhang besteht.

Zusammenfassend sind folgende Schlüsse zu ziehen:

In allen Düngern haben sich die wenigen, aus dem Streustroh stammenden Nitratbildner in 2 Wochen sowohl in der aeroben als auch in der anaeroben Atmosphäre vervielfacht. Selbst wenn die Prüfung des anaeroben Mistes von 75° C nach dieser Zeit keine Nitratbakterien mehr enthält, so spricht doch die nachgewiesene Nitratmenge dafür, daß hier sofort nach dem Ansetzen eine rege Nitrifikation stattgefunden haben muß, wenn man nicht eine chemische Bildung von Nitrat annehmen will. Die Ursache für das Verschwinden von nachweisbaren Nitratbakterien bildet hier in erster Linie nicht der Luftmangel, sondern die starke Erhitzung, da ja die ebenfalls anaerobe Probe von 45° C nach derselben Zeit eine starke Vermehrung dieser Bakterien erkennen läßt. Nur in den unbelüfteten Proben nimmt diese Keimzahl von der 2. Woche an ab, während die aeroben Proben bei 45° C und 15—20° C ein starkes Ansteigen aufweisen, wobei sich letztere Temperatur als günstiger erweist. Daraus ergibt sich, daß im belüfteten Mist die Temperatur von ca. 15—20° C die Tätigkeit der Nitratbildner am meisten begünstigt, ein anaerob, bei ca. 45° C aufbewahrter Dünger jedoch am wenigsten geeignet ist, die Nitrifikation zu fördern.

An diesem Versuch ist noch bemerkenswert, daß in der belüfteten Probe bei 75° C, die nach 2 Wochen den höchsten Nitratstickstoff-Gehalt aufwies, derselbe zunächst erhalten blieb, so daß anzunehmen war, daß bei dieser Temperatur auch die Denitrifikationsbakterien lebensunfähig geworden waren. Wenn jedoch am Schluß der Versuchszeit kein Nitrat mehr enthalten war, so ist dieses Verschwinden eventuell durch chemische Einwirkungen zu erklären. Malkomesius und Albert (32) nehmen z. B. an, daß sich Nitrat mit Humuskörpern zu Nitrokörpern verbinden kann.

Die Frage, welche Temperaturen überhaupt eine Nitratbildung im Mist gestatten, wird nach diesen Versuchen dahingehend beantwortet, daß bei allen Temperaturen von 15—75° C nachweislich Nitrat gebildet werden kann. Diese Tatsache steht allerdings im Gegensatz zu den Angaben von Boulanger und Massol (33), nach denen die Tötungstemperatur für Nitratbildner bei etwa 45° C liegen soll. Dieselbe Temperaturhöhe gibt Russel (34) an. F. L. Stevens und W. A. Withers (35) fanden die Maximaltemperatur bei 60° C, dagegen berichten E. de Kruijff (36) sowie auch Hutchinson (37), daß sogar bei 45 bzw. bei 40° C keine Nitrifikation mehr möglich sein soll. Aus diesen unterschiedlichen Ergebnissen geht zumindest hervor, daß das Verhalten der Nitrifikationsbakterien in jedem Material unter verschiedenen Versuchsbedingungen abweichend ist. Es kann

wohl unberücksichtigt bleiben, daß jene Autoren mit aus der Erde stammenden Nitratbildnern gearbeitet haben. Die Identität dieser mit den im Mist lebenden Organismen wird z. B. von Niklewsky (38) aus ihrer morphologischen Ähnlichkeit, sowie aus der Fähigkeit der letzteren zur prototrophen Lebensweise in anorganischen Nährlösungen bewiesen. Die Richtigkeit dieser Annahme erhellt auch aus den im folgenden Abschnitt angeführten Ergebnissen der Impfungen von Nährlösungen mit Reinkulturen sowie Bodenextrakt.

Grundsätzlich verschieden ist, wie Tab. 8 und die Abb. 6 zeigen, das Verhalten der Nitratbildner im belüfteten und unbelüfteten Material. Während das erstere bei fast allen Temperaturen günstig wirkt, geht die Zahl der Nitrifikationsbakterien im zweiten, nach anfänglichem Ansteigen allmählich zurück, so daß als erster der bei 75° C aufbewahrte Mist nach 2 Wochen, die übrigen nach 12 Wochen keine Nitrifikationsbakterien mehr enthielten. Diese Ergebnisse stehen hinsichtlich der günstigen Wirkung von Luft auf die Nitratbildung durchaus im Einklang mit den bisherigen Erfahrungen, während sie jedoch in bezug auf die Resistenz dieser Bakterien gegen erhöhte Temperaturen und vollständigen Luftabschluß wesentliche Unterschiede gegenüber bisherigen Feststellungen aufweisen.

Erblickt man in der Anwesenheit von Nitrat ein schlechtes Merkmal für die Qualität eines Düngers, so erscheint, wie schon erwähnt, ein bei 15 bis 20° C belüftetes Material als am wenigsten wertvoll, während das bei etwa 45° C aufbewahrte am vorteilhaftesten wäre. Grundsätzlich dasselbe ergibt sich bezüglich des belüfteten und unbelüfteten Düngers, wenn man die Anwesenheit von Nitratbildnern als unerwünscht ansieht, doch hierbei mit der Ausnahme, daß nicht die Temperatur von 45° C, sondern die von 75° C optimal erscheint.

2. Untersuchungen über Nitratbildung in anorganischen Nährlösungen.

Angesichts der Tatsache, daß die Tätigkeit der Nitratbakterien in den Gefäßversuchen mit künstlich hergestelltem Dung auf verschiedene Weise chemisch und biologisch beeinflußt wird, wurde zur Beobachtung des Verhaltens dieser Bakterien gegen äußere Faktoren, wie Luft und Temperatur, eine Versuchsreihe notwendig, deren einzelne Parallelen sich nur in diesen beiden äußeren Faktoren unterschieden, ohne Beeinflussung durch sonst im Stallmist enthaltene Mikroorganismen bzw. deren Stoffwechselprodukte. Zur Impfung von anorganischen Nährflüssigkeiten wurden einmal Reinkulturen von Nitrobacter und Nitrosomonas und ferner Extrakte einer fruchtbaren Ackererde (Schwarzerde von Schlanstedt) verwandt. Auf diese Weise wurde den verschiedenen physiologischen Eigenschaften der Nitratbakterien in jedem Medium Rechnung getragen.

Die Nährlösung für alle Reihen wurde wie folgt hergestellt:

0,15% $(NH_4)_2SO_4$,
0,1 % K_2HPO_4,
0,05% $MgSO_4$,
0,2 % NaCl und
0,04% $FeSO_4$

wurden in wässeriger Lösung sterilisiert und nach dem Erkalten mit sterilem $CaCO_3$ im Überschuß versetzt. Die Impfungen selbst erfolgten unter sterilen Bedingungen, und zwar in 200 ccm Erlenmeyer-Kolben, die je 100 ccm obiger Flüssigkeit enthielten.

Tabelle 8.

Nitrifikationsversuch in sterilisierten Nährlösungen.

Impfung mit 1 ccm Bodenaufschwemmung. Gesamt-N-Gehalt des sterilisierten Nährbodens 25,27 mg N je Kölbchen. Die Werte stellen das Mittel von zwei Werten dar.

Aerob													
1	2	3	4	5	6		7						
Dauer des Versuchs in Wochen	Temperatur ° C	Gehalt d. Kölbchens d. Verdünnung 10^{-2}			Gesamt-N d. unbeimpft. Kölbchens		Qualitativer Nitratnachweis a) Nitrat b) Ammoniak						
		Nitrat-N mg[1])	Amm.-N mg	Amm.-N + Nitr.-N mg[2])			Unbeimpft	10^{-1}	10^{-2}	$10^{-2,5}$	10^{-3}	$10^{-3,5}$	10^{-4}
2	15—20	9,7	8,4	18,1	24,1	a)	—	+++	+++	++	++	—	—
						b)	×××	×	×	××	×××	×××	×××
	45	16,9	2,0	18,9	20,2	a)	—	+++	+++	+++	+++	++	—
						b)	×××	—	×	×	×	×	×××
	75	18,6	0	18,6	14,6	a)	—	+++	+++	+++	+++	+	+
						b)	××	—	—	—	—	—	×
5	15—20	13,8	3,2	17,0	21,2	a)	—	+++	+++	+++	+++	++	++
						b)	×××	—	×	×	×	×	×
	45	18,2	0	18,2	19,1	a)	—	+++	+++	+++	+++	+++	++
						b)	××	—	—	—	—	—	—
	75	17,0	0	17,0	8,4	a)	—	+++	+++	+++	+++	+++	++
						b)	×	—	—	—	—	—	—
12	15—20	16,5	0	16,5	17,8	a)	—	+++	+++	+++	+++	+++	++
						b)	×××	—	—	—	—	—	×
	45	18,0	0	18,0	11,4	a)	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++
						b)	××	—	—	—	—	—	—
	75	16,3	0	16,3	·	a)	—	+++	+++	+++	+++	+++	+++
						b)	×	—	—	—	—	—	—

[1]) Mit Hilfe der Xylenolmethode ermittelt. [2]) Summe von Spalte 3 und 4.

In Tab. 8—11 sind neben den Nitratwerten, die mit Hilfe der Xylenolmethode ermittelt wurden, auch die Ergebnisse der Tüpfelreaktionen mit Diphenylbenzidin vergleichsweise aufgeführt. Letzteres Reagens wurde 0,4proz. in 80proz. H_2SO_4 angewandt. Um den störenden Einfluß etwa vorhandener organischer Stoffe zu kontrollieren, wurden zu jeder Reihe unbeimpfte Parallelen angesetzt.

Da diese Versuche eine Vergleichsreihe zu den Prüfungen der Nitrifikationsverhältnisse im Stallmist darstellen sollten, wurden tunlichst dieselben Bedingungen, also Temperatur- und Luftverhältnisse, beibehalten und die Proben ebenfalls in denselben Zeitabständen untersucht.

Den Ergebnissen der Nitratbildung sind in Tab. 8—11 die gleichzeitig ermittelten qualitativen und quantitativen Prüfungen auf Ammoniak gegenübergestellt, welch erstere mit Neßlers Reagens ebenfalls als Tüpfelreaktion ausgeführt wurden.

Da nun diese beiden Tüpfelreaktionen nur qualitative Ergebnisse ermöglichen, andererseits jedoch die Wechselwirkung der Ammoniakoxydation und der Nitratbildung sichtbar zu machen war, so erfolgten diese Prüfungen mit Nährlösungen, welche mit steigenden Verdünnungen der Reinkulturen bzw. des Bodenextraktes geimpft

worden waren. Die Intensität jeder Farbreaktion ist in Tab. 8—11 mit + angegeben, wobei + = schwache, ++ = mittlere und +++ = starke Reaktionen bedeuten. Die Ammoniakergebnisse sind mit ×-Zeichen, also entsprechend ×, ××, ×××, kenntlich gemacht.

Die Werte der Tab. 8—11 sind in den Abb. 6—9 veranschaulicht.

Die Nitratbildung ging also in den Nährböden wie folgt vor sich:

Die mit Bodenextrakt geimpften Kolben, die bei einer Temperatur von 15—20° C ohne Luftabschluß aufbewahrt wurden, zeigten schon nach 2 Wochen eine starke Nitratbildung, so daß nach dieser Zeit mehr Stickstoff in Nitratform als in Ammoniakform gefunden wurde. Daß diese Entwicklung in derselben Richtung weiterging, zeigte die Prüfung nach 5 Wochen. Am Ende der 12. Woche war das Ammoniak verschwunden, die Umsetzung also restlos vollzogen. Trotzdem enthielt, wie der Wert der Spalte 5 erkennen läßt, die unbeimpfte Vergleichsprobe, die während der ganzen Zeit unter denselben Bedingungen gehalten worden war, mehr Stickstoff als die beimpfte. Die Nitratbildung war also nicht verlustlos erfolgt. Diese Tatsache finden wir, wenn auch nicht so markant, ebenfalls in den Kolben, die mit Reinkulturen beimpft waren.

Gesamt-N-Gehalt der ster. unbeimpften Nährlösung
Amm.-N-Gehalt der unbeimpften Kontrollprobe
Am… N-Gehalt der beimpften Lösung
N… N-Gehalt der beimpften Lösung

Abb. 6.
Geimpft mit Bodenextrakt. Aerob aufbewahrt.

Betrachten wir die Vergleichsergebnisse der anaeroben Versuchsreihe bei derselben Temperatur, so finden wir nach 2 Wochen sowohl bei den mit Bodenextrakt, wie auch bei den mit Reinkulturen versetzten Proben überhaupt noch keine Nitrate. Erst nach 5 Wochen hat sich, und zwar bei den mit Boden versetzten, etwas Nitrat gebildet. Nach 12 Wochen zeigt sich in den beiden verschieden beimpften Reihen eine unterschiedliche Entwicklung. Während die geringe Menge Nitrat in der mit Boden beimpften Nährlösung wieder zurückging, finden wir in den Kolben mit Reinkulturen etwa 6 mal soviel wie nach 5 Wochen. Der Gesamtstickstoffgehalt (also Nitrat-N + Ammoniak-N, siehe Spalte 5) beider Impfungen ist jedoch wie

Tabelle 10.
Nitrifikationsversuch in sterilisierten Nährlösungen.
Impfung mit Reinkulturen von Nitrosomonas + Nitrobacter. Gesamt-N-Gehalt des sterilisierten Nährbodens 25,27 mg N je Kölbchen. Die Werte stellen das Mittel von zwei Parallelen dar.

Aerob														
1	2	3	4	5	6		7							
Dauer des Versuchs in Wochen	Temperatur ° C	Gehalt d. Kölbchens d. Verdünnung 10^{-2}: Nitrat-N mg[1])	Amm.-N mg	Amm.-N + Nitr.-N mg[2])	Gesamt-N d. unbeimpft. Kölbchens		Qualitativer Nitratnachweis a) Nitrat b) Ammoniak: Unbeimpft	10^{-1}	10^{-2}	$10^{-2,5}$	10^{-3}	$10^{-3,5}$	10^{-4}
2	15—20	4,2	20,0	24,2	24,21	a)	—	+	+	—	—	—	—
						b)	×××	×××	×××	×××	×××	×××	×××
	45	9,1	10,2	19,3	19,50	a)	—	+	+	+	+	+	—
						b)	×××	××	××	××	×××	××	××
	75	11,2	3,1	14,3	13,71	a)	—	++	++	+	+	—	—
						b)	××	×	×	×	×	××	××
5	15—20	7,6	11,9	19,5	20,49	a)	—	++	++	++	+	+	+
						b)	×××	××	××	××	×××	×××	×××
	45	10,3	7,0	17,3	18,03	a)	—	+	+	+	+	+	+
						b)	××	×	×	×	×	××	××
	75	11,9	0	11,9	9,95	a)	—	++	++	+	—	—	—
						b)	×	—	—	×	×	×	×
12	15—20	15,9	0	15,9	16,47	a)	—	+++	+++	++	+	—	—
						b)	×××	—	—	××	××	×××	×××
	45	9,8	0	9,8	10,81	a)	—	+	+	+	+	+	+
						b)	××	—	—	—	—	—	—
	75	10,9	0	10,9	2,44	a)	—	++	++	+	—	—	—
						b)	×	—	—	—	—	—	—

[1]) Mit Hilfe der Xylenolmethode ermittelt. [2]) Summe von Spalte 3 und 4.

sowohl in den anaeroben als auch in den aeroben Proben zu. Bei 75° C war die Nitrifikation bereits lange vor dem ersten Untersuchungstermin abgeschlossen, denn die unbeimpften Gefäße zeigten den Versuchen mit Reinkulturen gegenüber bereits Stickstoffverluste. War also der Stickstoff in Salpeter übergeführt, dann konnte er nicht mehr verlorengehen[1]). Bei höherer Temperatur zeigten auch die beimpften Proben einen höheren Stickstoffgehalt als die unbeimpften. Also setzte die Nitrifikation die Stickstoffverluste herab.

Die Menge des gebildeten Nitrates war, wie zu erwarten, dort am größten, wo die Ammoniakverluste infolge niedriger Temperatur gering waren (bei 15—20° C).

Ebenso wie die aerob bebrüteten Proben Verluste an Ammoniak erlitten, zeigten diese Erscheinung auch die anaeroben Parallelen. Allerdings waren diese Verluste im allgemeinen geringer als bei aerober Aufbewahrung. In

[1]) Die geringen Schwankungen, die sich z. B. bei 45° und bei 75° mit Reinkulturen unter aeroben Bedingungen nach 5 und 12 Wochen zeigten, müssen als innerhalb der Fehlergrenze liegend angesehen werden.

diesen Kolben waren auch die erzielten Nitratmengen kleiner als die der aeroben Proben.

Betrachten wir als Vergleich die Ergebnisse der Versuche mit Bodenextrakt, so fällt zunächst auf, daß hier die Nitrifikationsgeschwindigkeit größer war als bei Verwendung von Reinkulturen. Dies hatte zur Folge, daß bei höheren Temperaturen zwar ebenfalls Verluste an Stickstoff auftraten, die jedoch mit Bodenextrakt unter aeroben Bedingungen geringer waren als bei den Impfungen mit Reinkulturen. Im Gegensatz zu den aeroben Proben konnte die Nitrifikation unter anaeroben Bedingungen die Stickstoffverluste nicht herabsetzen (siehe Abb. 7 und 8). Im übrigen unterschieden sich die mit Reinkulturen geimpften Nährlösungen von denen mit Bodenextrakt dadurch, daß bei letzteren das gebildete Nitrat wieder verschwand, während es bei den Reinkulturen erhalten blieb. Da in den Versuchen mit Bodenextrakt der Gesamtstickstoffgehalt wesentlich größere Verluste zeigte, wird angenommen, daß der Stickstoff nur auf dem Wege der Denitrifikation verlorengegangen ist. Vor allem bei den Temperaturen von 45 und 75° C zeigte sich in den Bodenextraktproben ein Ansteigen der Stickstoffverluste.

Gesamt.N-Gehalt der sten. unbeimpften Nährlösung
Amm.-N-Gehalt der unbeimpften Kontrollprobe
Amm.-N-Gehalt der beimpften Lösung
Nitrat-N-Gehalt der beimpften Lösung

Abb. 8.
Geimpft mit Reinkulturen. Aerob aufbewahrt.

Die bei 75° C mit Bodenextraktimpfung unter anaeroben Verhältnissen gewonnenen Ergebnisse ließen außerdem erkennen, daß das gesamte Nitrat bereits denitrifiziert war, ehe das Ammoniak restlos oxydiert bzw. verdunstet war. Die anaerob bebrüteten Kolben bei 45 und 75° C hatten durch die Impfung einen Stickstoffverlust von etwa 50%, der auf Kosten des Nitrates nur durch Denitrifikation herbeigeführt sein konnte.

Der Hauptzweck vorstehend beschriebener Nährlösungsversuche bestand darin, die sowohl in bezug auf die Lebensbedingungen der Nitratbakterien als auch hinsichtlich der Stickstoffumsetzungen gewonnenen Er-

Tabelle 11.
Nitrifikationsversuch in sterilisierten Nährlösungen.

Impfung mit Reinkulturen von Nitrosomonas + Nitrobacter. Gesamt-N-Gehalt des sterilisierten Nährbodens 25,27 mg N je Kölbchen. Die Werte stellen das Mittel von zwei Parallelen dar.

Anaerob													
1	2	3	4	5	6		7						
Dauer des Versuchs in Wochen	Temperatur ° C	Gehalt d. Kölbchens d. Verdünnung 10^{-2}			Gesamt-N d. unbeimpft. Kölbchens		Qualitativer Nitratnachweis: a) Nitrat b) Ammoniak						
		Nitrat-N mg[1]	Amm.-N mg	Amm.-N + Nitr.-N mg[2]			Unbeimpft	10^{-1}	10^{-2}	$10^{-2,5}$	10^{-3}	$10^{-3,5}$	10^{-4}
2	15—20	0	25,0	25,0	25,24	a)	—	—	—	—	—	—	—
						b)	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×
	45	2,9	19,2	22,1	18,17	a)	—	+	+	+	—	—	—
						b)	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×
	75	8,8	11,7	20,5	18,22	a)	—	+ +	+ +	+ +	+	+	+
						b)	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×
5	15—20	1,3	22,1	23,4	25,16	a)	—	+	+	—	—	—	—
						b)	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×
	45	4,5	15,6	20,1	18,04	a)	—	+ + +	+ +	+ +	—	+	—
						b)	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×
	75	8,1	4,1	12,2	7,15	a)	—	+ +	+ +	+	—	+	—
						b)	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×
12	15—20	8,2	12,3	20,5	22,51	a)	—	+ + +	+ + +	+ +	+	+	—
						b)	× × ×	× ×	× ×	× × ×	× × ×	× × ×	× × ×
	45	10,2	9,6	19,8	18,50	a)	—	+ +	+ +	+	+	+	+
						b)	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×	× ×
	75	6,8	5,9	12,7	5,00	a)	—	+	+	—	—	—	—
						b)	× ×	× × ×	× ×	× ×	× ×	× × ×	× ×

[1]) Mit Hilfe der Xylenolmethode ermittelt. [2]) Summe von Spalte 3 und 4.

gebnisse mit denen der Gefäßversuche mit künstlich hergestelltem Dung zu vergleichen.

Die mit Reinkulturen und Bodenextrakt durchgeführten Versuche zeigten, daß eine Nitrifikation unter aeroben Bedingungen den Stickstoffgehalt sicherte, während die anaerobe Bebrütung durch Denitrifikation größere Stickstoffverluste bedingte. Da nun die Nitrifikation erst die Voraussetzung für die Denitrifikation bildet, muß folglich, um Stickstoffverlust zu vermeiden, im Dung die Bildung von Nitrat verhindert werden.

Die niedrigen Temperaturen von 15—20° C verzögern zwar zunächst die Salpeterbildung in den Stalldüngern, um sie später jedoch langsam und stetig zu ermöglichen. Diese Erscheinung wird in Abb. 2 sowohl durch die Kurve der Nitratmenge als auch durch diejenige der Nitratbildner veranschaulicht. Andererseits zeigt diese Abbildung jedoch auch, daß bei dieser Temperatur unter anaeroben Bedingungen die Entwicklung der Nitratbildner gehemmt wird; dasselbe ist in Abb. 3 bei 45° C und noch deutlicher in Abb. 4 bei 75° C der Fall. Bei letzterer Temperatur wird zwar anfangs Nitrat gebildet, doch schon nach 2 Wochen ist, wie Abb. 4 zeigt, die Zahl der Nitratbildner gleich Null.

Bei dieser Temperatur wird unter Luftabschluß nach kurzer Zeit eine Nitratbildung völlig unterbunden. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei 45° C (Abb. 3). Auch hier erkennt man eine günstige Beeinflussung der Nitratbakterien bei Belüftung, während im anaeroben Vergleichsversuch die Bakterienzahl wie auch der Nitratgehalt abnehmen.

Gesamt.N-Gehalt der ster. unbeimpften Nährlösung
Amm.-N-Gehalt der unbeimpften Kontrollprobe
Amm.-N-Gehalt der beimpften Lösung
Nitrat-N-Gehalt der beimpften Lösung

Abb. 9.
Geimpft mit Reinkulturen. Anaerob aufbewahrt.

Aus diesen Feststellungen ist nicht zu schließen, daß allein anaerobe Verhältnisse genügen, um Stickstoffverluste durch Denitrifikation zu vermeiden, denn die Versuche mit Nährlösungen haben gezeigt, daß gerade unter anaeroben Bedingungen die Denitrifikation und damit die Stickstoffverluste größer sind als bei Belüftung. Man kann lediglich folgern, daß im Interesse der Stickstofferhaltung im Dünger einerseits die Nitrifikation zu verhindern ist, dieses kann am Anfang der Lagerung durch starke Erhitzung erreicht werden; andererseits darf diese Erhitzung nicht zu lange erfolgen, da sonst bei offen lagerndem Dünger Stickstoffverluste durch Ammoniakverdunstung entstehen.

Die Denitrifikation des anfangs bei 75° C gebildeten Salpeters müßte im Interesse der Beschränkung der Stickstoffverluste auf eine kurze Zeit zu Beginn der Lagerung in Kauf genommen werden, um zu verhindern, daß bei niedrigeren Temperaturen zwar langsamer, aber dafür laufend Stickstoff durch Denitrifikation verlorengeht.

Da nun in einem Düngerstapel praktisch immer anaerobe Verhältnisse herrschen, die Denitrifikation also begünstigt wird, so erscheint zur Einschränkung der Stickstoffverluste die Unterbindung der Nitratbildung unerläßlich. Als sicherste Methode, dies zu erreichen, hat sich sowohl in den Impfversuchen als auch in den Gefäßproben mit künstlich bereitetem Dung eine schnelle Erhitzung erwiesen.

III. Nitratgehalt der unter praktischen Bedingungen vergorenen Stalldüngersorten.

Die wiederholt in der Literatur erscheinenden Angaben, daß im Dünger bis zu 20% (39) und sogar bis zu 40% (40) des Gesamtstickstoffes in Nitratform nachzuweisen wäre, haben die Aufmerksamkeit besonders auf das Problem der Nitrifikation im Stallmist gelenkt. Wie schon eingangs erwähnt, besteht die Möglichkeit, daß auf Grund unspezifischer Untersuchungsmethoden Fehlschlüsse in bezug auf die Mengen des in Nitratform gebundenen, daher besonders gefährdeten Stickstoffs gezogen worden sind. Man hat zur Erforschung der Nitrifikation außerdem die Anzahl der jeweils nachweisbaren Nitratbildner festgestellt und wohl mit Recht behauptet, daß ihre Anwesenheit auf eine Nitrifikationstätigkeit schließen lasse, andererseits ein Fehlen dieser Keime nicht die Möglichkeit einer bereits abgeschlossenen Tätigkeit ausschließe. Es ist versucht worden, die Güte einer Düngerbehandlung sowohl nach der Zahl der Nitratbakterien, als auch an der Menge der nachgewiesenen Produkte ihrer Tätigkeit zu messen.

Diese Art der Beurteilung setzt eine genaue Bestimmung von Nitrat voraus. Um daher die verschiedenen Angaben betr. der Menge des Nitratstickstoffes im Verhältnis zum Gesamtstickstoff einer eingehenden Prüfung zu unterziehen, war es nötig, an einer größeren Reihe von Düngerproben quantitative Nitratbestimmungen auszuführen. Hierbei gelangte in allen Fällen die als zuverlässig erprobte Xylenol-Methode zur Anwendung. Wenn außerdem die weniger genauen Bestimmungsarten mit Devarda und Phenolschwefelsäure gleichzeitig berücksichtigt wurden, so geschah dies, um durch die Gegenüberstellung der Ergebnisse zu beweisen, daß bei der ausschließlichen Anwendung einer der letzten Methoden sich ein wesentlich anderes Bild, sowohl in bezug auf die Höhe der Nitratvorkommen überhaupt, als auch hinsichtlich des Verhältnisses von Nitratstickstoff und Gesamtstickstoff, ergeben haben würde.

Für diese Reihenuntersuchungen wurden absichtlich die unterschiedlichsten Düngersorten geprüft, um so zunächst festzustellen, ob und welche Behandlungsverfahren eventuell sich von anderen unterscheiden. Die Ergebnisse sind in den Tab. 12—14 verzeichnet.

Wie Tab. 12, 13 und 14 zeigen, unterscheiden sich die verschiedenen Gärverfahren nicht grundsätzlich hinsichtlich der Menge des im Stalldung gefundenen Nitrates. Auf die Ergebnisse der Nitratbestimmungen mit Xylenol berechnet, enthalten diese Düngerproben im Durchschnitt 0,177% ihres Gesamtstickstoffes als Nitrat. Legt man dagegen die Werte der Devardaschen Methode zugrunde, so würde der Nitratstickstoff 0,77% des Gesamtgehaltes betragen. Die Phenolschwefelsäure-Bestimmungen zeigen den Mittelwert von 0,24% Stickstoff als Nitrat. Damit wird deutlich, daß die beiden letzteren Bestimmungsarten ein recht abweichendes Ergebnis und damit ebensolche Schlußfolgerungen veranlassen können.

Nach der Xylenol-Methode beurteilt, enthält keine der untersuchten 57 Düngerproben auch nur 1% des Gesamtstickstoffes als Nitrat, die große Mehrheit der Proben sogar nur Bruchteile davon. Die Höchstzahl der nach der Devardaschen Methode gefundenen Nitratwerte betrug 1,8% des Gesamtstickstoffgehaltes (Probe vom 16. 8. 1937, Hofmist), während die Phenolschwefelsäure-Methode als Höchstmenge 1,2% ergab (Probe vom 16. 2. 1937, Hofmist).

Tabelle 12.

Gesamt-N-, Ammoniak-N- und Nitrat-N-Gehalt[1]) verschiedener Stalldüngerproben.

Datum	Art des Materials	% Gesamt-N in g	% NH_3-N in g	% Nitrat-N in mg	Methode
20. 2. 1936	Württ. Dunglege Pommritz	0,455	0,091	1,00 0,82 0,60	D X Ph
13. 3. 1936	Hofmist 30 cm von unten	0,494	0,067	3,10 0,08 1,10	D X Ph
14. 3. 1936	Hofmist 80 cm von unten	0,454	0,075	2,70 0,15 0,89	D X Ph
15. 3. 1936	Hofmist Magdeborn 30 cm von unten	0,525	0,092	3,20 0,084 0,41	D X Ph
15. 3. 1936	Hofmist Magedeborn 100 cm von unten	0,492	0,045	6,00 0,28 1,40	D X Ph
16. 3. 1936	Hofmist Dehnitz 20 cm von unten	0,350	0,016	2,21 0,07 0,00	D X Ph
16. 3. 1936	Hofmist Dehnitz 80 cm von unten	0,429	0,047	0,90 0,81 1,00	D X Ph
18. 3. 1936	Hofmist Göltzschen 20 cm von unten	0,428	0,078	2,80 0,18 1,50	D X Ph
18. 3. 1936	Hofmist Göltzschen 80 cm von unten	0,355	0,072	3,10 0,38 1,41	D X Ph
2. 4. 1936	Edelmist Dom. Fuhnern, Trebnitz	0,587	0,120	1,30 0,04 0,82	D X Ph
8. 4. 1936	Torfstrohmist Verwaltungsamt Ldb. Pommern	0,347	0,042	4,50 1,20 0,91	D X Ph
20. 2. 1937	Stapelmist Kaschka, Steude	0,511	0,028	5,00 0,90 1,51	D X Ph
20. 2. 1937	Stapelmist I Mehner, Zadel	0,404	0,084	1,80 0,20 —	D X Ph

[1]) D = nach der Dovardaschen Methode, X = nach der Xylenolmethode, Ph = nach der Phenol-Schwefelsäuremethode, Nitron = nach der Nitronmethode.

Tabelle 12 (Fortsetzung).

Datum	Art des Materials	% Gesamt-N in g	% NH^3-N in g	% Nitrat-N in mg	Methode
20. 2. 1937	Stapelmist II Mehner, Zadel	0,427	0,067	4,10 0,20 1,80	D X Ph
16. 2. 1937	Hofmist I „oben" Helmig, Bröda	0,449	0,135	1,30 0,40 2,00	D X Ph
16. 2. 1937	Hofmist II „unten" Helmig, Bröda	0,449	0,080	6,10 1,60 5,40	D X Ph
20. 2. 1937	Stapelmist Kascka, Steude	0,525	0,036	4,40 0,90 1,50	D X Ph
26. 2. 1937	Stallmist Riemsdorf	0,401	0,090	3,00 0,00 0,80	D X Ph
14. 8. 1937	Hofmist „oben" Hunger, Crottendorf	0,383	0,045	7,10 1,45 3,03	D X Ph
15. 8. 1937	Hofmist „mitte" Hunger, Crottendorf	0,418	0,039	6,00 1,70 0,80	D X Ph
16. 8. 1937	Hofmist „oben" Schreiber, Crottendorf	0,379	0,017	7,00 2,75 —	D X Ph
9. 9. 1937	Stallmist „oben" Meyer, Schönfeld	0,562	0,114	0,74 1,50 0,52	D X Ph
10. 9. 1937	Stallmist „unten" Meyer, Schönfeld	0,539	0,093	1,20 0,00 0,10	D X Nitron
12. 9. 1937	Stallmist „oben" Lindner, Gelenau	0,429	0,020	6,60 4,20 3,90	D X Nitron
14. 9. 1937	Stallmist „unten" Lindner, Gelenau	0,419	0,008	2,80 0,13 0,09	D X Nitron

In keiner dieser Untersuchungen finden sich also derartig hohe Mengen wie teilweise in der Literatur angegeben (39, 40). Andererseits ist auffallend, daß nur in wenigen Düngerproben überhaupt kein Nitrat gefunden wurde.

Die in der Tab. 14 wiedergegebenen Keimzahlen von Nitratbildnern stehen vielfach in einem gewissen Verhältnis zu der Menge des nachweisbaren Nitrates und sind in den oberen Schichten der Stapel fast immer größer als in den unteren. Andererseits finden sich, bis auf eine Ausnahme (Heißmist, Cunnersdorf), auch in allen unteren Schichten Salpeterbildner.

Tabelle 13. Gesamt-N-, Ammoniak-N- und Nitrat-N-Gehalt[1]) verschiedener Stalldüngerproben der Lagerungsversuche Cunnersdorf[2]).

Datum	Art des Materials	% Gesamt-N in g	% NH_3-N in g	% Nitrat-N in mg	Methode
11. 3. 1936	Württ. Dunglege	0,314	0,027	0,90	D
				0,31	X
				—	Ph
12. 3. 1936	Behelfsmäßiger Heißmist	0,319	0,050	0,10	D
				0,00	X
				0,31	Ph
12. 3. 1936	Behelfsmäßiger Kaltmist	0,356	0,017	2,10	D
				1,30	X
				1,80	Ph
12. 3. 1936	Gärstatt Heißmist	0,432	0,045	4,70	D
				1,20	X
				1,70	Ph
17. 3. 1936	Stapelmist	0,658	0,120	6,10	D
				4,80	X
				4,40	Ph
17. 9. 1936	Frischmist	0,364	0,048	5,30	D
				0,22	X
				2,60	Ph
25. 9. 1936	Frischmist	0,339	0,036	7,40	D
				2,41	X
				0,00	Ph
16. 12. 1936	Frischmist	0,371	0,020	7,00	D
				5,80	X
				—	Ph
10. 3. 1937	Württ. Dunglege	0,358	0,045	0,80	D
				0,00	X
				—	Ph
11. 3. 1937	Gärstatt	0,412	0,095	1,50	D
				0,60	X
				0,81	Ph
11. 3. 1937	Behelfsmäßiger Heißmist	0,375	0,017	0,20	D
				0,00	X
				0,50	Ph
25. 7. 1937	Gärstatt II „oben“	0,378	0,000	4,50	D
				4,10	X
				2,40	Ph
25. 7. 1937	Gärstatt II „mitte“	0,573	0,074	6,00	D
				2,95	X
				1,40	Ph
25. 7. 1937	Gärstatt II „unten“	0,536	0,087	4,50	D
				0,00	X
				1,40	Ph
26. 7. 1937	Württ. Dunglege „oben“	0,442	0,089	0,74	D
				0,20	X
				—	Ph
26. 7. 1937	Württ. Dunglege „mitte“	0,445	0,107	0,70	D
				1,20	X
				1,00	Ph
26. 7. 1937	Württ. Dunglege „unten“	0,402	0,112	1,40	D
				0,08	X
				—	Ph

[1]) D = nach der Devardaschen Methode, X = nach der Xylenolmethode, Ph = nach der Phenol-Schwefelsäuremethode.

[2]) Glathe, H., und Metzen, O. von, Vergleichende Stalldünger-Lagerungsversuche. (Bodenkde. u. Pflanzenernähr. Bd. 5. H. 3/4. 1937.)

Tabelle 14.
Untersuchungen von Stalldüngerproben in verschiedener Stapelhöhe.

Lagerungsart	% Gesamt-N in g	% NH_3-N in g	Mindestzahl der Nitratbildner in 1 g	% Nitratstickstoff in mg nach Xylenol	nach Devarda	nach Phenolschwefelsäure- bzw. Tüpfelmeth.
Heißmist Cunnersdorf						
„oben"	0,378	0,000	500	4,10	4,50	2,40
„unten" . . .	0,556	0,087	0	0,00	4,50	1,40
Württ. Dunglege						
„oben"	0,442	0,089	10 000	0,20	0,14	—
„Mitte" . . .	0,445	0,107	20 000	1,20	0,70	1,00
„unten" . . .	0,402	0,112	1 000	0,08	1,40	—
Stallmist Meyer, Schönf.						
„oben"	0,562	0,144	35 000	1,50	0,74	0,52
„unten" . . .	0,539	0,093	5 000	0,00	1,20	1,00
Stalldünger Hettmank						nach Nitron
„oben"	0,446	0,031	25 000	0,72	—	0,64
„unten" . . .	0,503	0,025	20 000	0,34	—	0,29
Stalldünger Soring						
„oben"	0,508	0,068	15 000	0,94	—	1,10
„unten" . . .	0,526	0,025	10 000	0,16	—	0,22
Stalldünger Töpfer, Geipl.						
„oben"	0,272	0,006	20 000	0,44	—	0,495
„unten" . . .	0,396	0,089	15 000	0,69	—	0,60
Stalldünger Sperling, Särchen						
„oben"	0,421	0,056	25 000	0,54	—	—
„unten" . . .	0,508	0,039	5 000	0,07	—	—

Zusammenfassung.

1. Die quantitative Bestimmung von Nitrat in organischen Düngern wird durch deren physikalische und chemisch-biologische Struktur sehr erschwert. Fast alle Bestimmungsmethoden erweisen sich als ungenau bzw. nicht-spezifisch. Als empfindlichste und zugleich zuverlässigste Methode wird die Bestimmung des Nitrates als Nitroxylenol befunden.

2. Weder mit dieser, noch mit den vergleichsweise angewandten anderen Methoden wurden in den Gefäßversuchen mit künstlich hergestelltem Dung und in den übrigen Düngern ähnlich große Nitratmengen ermittelt, wie zuweilen in der Literatur verzeichnet wurde. Die Menge des im Stalldung nachgewiesenen Nitratstickstoffes erreichte in keinem von ca. 60 Fällen 1% des Gesamstickstoffes. In den weitaus meisten Proben sogar nur Bruchteile dieser Menge. Dagegen waren nur sehr wenige Düngerproben völlig nitratfrei.

3. Eine Nitrifikation war in künstlich bereitetem Dung auch bei einer Temperatur von 75° C für kurze Zeit (2 Wochen) zu beobachten.

4. Eine Tätigkeit der Nitratbildner wurde unter anaeroben Bedingungen sowohl in mineralischen Nährlösungen, als auch in den Laboratoriumsversuchen mit künstlich hergestelltem Dung beobachtet. Sie war in allen Fällen jedoch in den belüfteten Parallelen stärker.

5. Eine Nitrifikation ist sowohl in Dünger als auch in anorganischen Nährlösungen immer mit Stickstoffverlusten verbunden, deren Höhe weder nach der Zahl der Nitratbakterien, noch nach der Menge des nachweisbaren Nitrates beurteilt werden kann.

6. Die mit Nährlösungen und Bodenextrakt durchgeführten Versuche zeigen, daß eine Nitrifikation nur dann zu Stickstoffverlusten führt, wenn gleichzeitig die Bedingungen für eine Denitrifikation gegeben sind.

7. An den mit Bodenextrakt geimpften Nährlösungen wurde festgestellt, daß Stickstoffverluste durch Denitrifikation schneller eintreten können als durch Ammoniakverdunstung.

8. Durch Nitrifikationsversuche unter verschiedenen Bedingungen sowohl mit Nährlösungen, welche mit Reinkulturen beimpft waren, als auch solchen, denen Bodenextrakt zugegeben war, ergab sich, daß in vielen Fällen die Stickstoffverluste nur durch das Zusammenwirken von Nitratbildung und Denitrifikation hervorgerufen sein konnte.

Literaturverzeichnis.

1. Thaer, Möglinsche Annalen d. Landwirtschaft. Bd. 11. 1823. S. 79. — 2. Ehrenberg, P. und Reichenbach, E., Mitt. d. Landw. Inst. Breslau. 1909. — 3. v. Hazzi, Über den Dünger. 6. Aufl. 1836. S. 31, 44. — 4. Kette, Die Fermentationstheorie usw. 2. Aufl. 1865. S. 58ff. — 5. Déhérain, Compt. Rend. T. 98. 1884. p. 377. — 6. Schlösing sen. et jun., Ann. Agron. Vol. 18. 1892. p. 5. (Ref. in: Zentralbl. f. Agric. Chemie. Bd. 21. 1892. S. 735.) — 7. Ruschmann, C., Ergebn. d. Agric. Chemie. Bd. 1. 1929. S. 132. — 8. Horn, Guido, Diss. Leipzig 1929. — 9. Rosenberg-Lipinsky, Prakt. Ackerbau. 3. Aufl. Bd. 2. 1869. S. 348. — 10. Ehrenberg, P. und Reichenbach, E., Mitt. Landw. Inst. Bd. 4. Breslau 1909. S. 863. — 11. Holdefleiß, F., Untersuchungen über den Stallmist. 1889. S. 80. — 12. Ehrenberg, P. und Reichenbach, E., Mitt. Landw. Inst. Bd. 4. Breslau 1909. S. 863. — 13. Russell, E. und Richards, E., Journ. Agric. Science. Vol. 21. 1914. p. 800. — 14. Löhnis, F., Handb. d. landw. Bakt. Abt. II. 1935. S. 94. — 15. Joulie, Compt. Rend. T. 28. 1884. p. 1444 f. — 16. Ann. Agron. Vol. 14. 1888. p. 97—133. — 17. Löhnis, F., Handb. d. landw. Bakt. Abt. II. 1935. S. 104. — 18. Niklewski, Br., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. 1919. — 19. Ruschmann, G., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 75. 1928. — 20. Busch, M., Ber. d. dtsch. chem. Ges. Bd. 38. 1905. S. 861. — 21. Oßwald, Ph., Mitt. a. d. Labor. d. I. G.-Farbenind. Angew. Chemie. Bd. 49. Nr. 8. 1937. S. 153. — 22. Wießmann, Hans, Agrikulturchem. Prakt. Quant. Analyse. 1926. — 23. Wiegner, Anleit. z. quant., agrikulturchem. Prakt. 1926. — 24. Andreadis, Biochem. Ztschr. Bd. 204. 1929. S. 484. — 25. Löhnis, F., Handb. landw. Bakt. Abt. II. 1935. S. 29. — 26. Schlösing, Compt. Rend. T. 109. 1889. p. 835. — 27. Blom, Trechow, vgl. Literaturverzeichnis 28. — 28. Alten, Wandrowsky und Hille, Bodenkde. u. Pflanzenernährg. Bd. 1. (46) H. 5/6. 1936. S. 340—348. — 29. Trechow, Gabrielsen, vgl. Literaturverzeichnis 28. — 30. Niklewsky, Br., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. S. 388. — 31. Junghähnel, R., im Druck. — 32. Malkomesius und Albert, R., Journ. f. prakt. Chemie. (N. F.) Bd. 70. 1904. S. 509—515. — 33. Boullanger, Massol, Ann. Inst. Pasteur. Vol. 18. 1903. p. 498. — 34. Russel, Jones und Barth, Soil Science. 1925. p. 381—398. — 35. Stevens, F., and Withers, W. A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 125. 1909/10. S. 66. — 36. de Kruijff, E., Zentralbl. f. Bakt. Bd. 26. 1910. Abt. II. S. 65—74. — 37. Hutchinson, C., Rept. Agric. Res. Inst. Pusa. 1914/15. p. 79. — 38. Niklewsky, Br., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 26. S. 441. — 39. Märker, Steffek und Schumann, Berichte d. Vers.-Stat. Halle 1894. S. 17. — 40. Notiz i. d. Landw. Zeitung f. Westfalen u. Lippe. 1899. S. 27.

Über Leptothrix crassa. Beiträge zur Kenntnis der Eisenbakterien.

[Aus dem Botanischen Institut Gießen.]

Von **Lisbeth Schorr.**

Mit 5 Abbildungen im Text.

Im Herbst 1938 wurde durch Herrn Prof. Dr. E. Küster meine Aufmerksamkeit auf eine Probe von Eisenbakterien gelenkt, die der Genannte im Schwarzwald (Fremersberg bei Baden-Baden) gesammelt hatte. Die vorliegenden Eisenbakterien erwiesen sich als Vertreter der Gattung Leptothrix; ihre Untersuchung machte mit beachtenswerten morphologischen und physikalischen Eigenschaften der Art bekannt, über die ich im folgenden berichten möchte.

Die fadenförmig verbundenen Zellen des Bakteriums sind durchschnittlich 1—1,3 μ breit und 2—4 μ lang und werden von einer durch ihren Eisengehalt gelb bis rostbraun gefärbten Scheide umgeben, die eine homogene Masse darstellt und durch ihre Breite auffällt, indem diese meist 13—15 μ, nicht selten 20—25 μ, in manchen Fällen sogar 28—30 μ erreicht. Nach einem Ende hin verjüngt sich oft das ganze Gebilde, so daß ein auffallender Unterschied zwischen einer breiteren Basis und einer schmäleren Spitze zu beobachten ist [vgl. Winogradsky (1888, S. 265), Molisch (1910, S. 22), Benecke (1912, S. 488)]; derartige Fäden pflegen an einem Substrat befestigt zu sein. Neben diesen Fäden mit deutlicher Polarität findet man andere, die an beiden Enden verjüngt sind, keine Polarität erkennen lassen und vermutlich an beiden Enden durch Spitzenwachstum sich verlängern; solche Fäden leben anscheinend frei, d. h. sie sind nirgends mit irgendeinem Substrat fest verbunden. Gar nicht selten sind in meinem Schwarzwälder Material Fadenstücke mit mehr als 2 Spitzen, die man als verzweigt bezeichnen darf [vgl. Cholodny (1926, Abb. 18)]. In welchem Sinne diesen Formen gegenüber von Verzweigungen gesprochen werden darf, werden wir später zu prüfen haben. Die freien und festsitzenden Fäden sind oftmals unregelmäßig gebogen [vgl. Cholodny (1924, S. 293, Abb. 1 b; 1926, S. 15, Abb. 1 c und S. 127, Abb. 18)].

Die genannten Merkmale stimmen im wesentlichen mit den von Cholodny (1924, S. 292; 1926, S. 14) und Molisch (1926, S. 36) für Leptothrix crassa Chol., desgleichen mit den von Dorff (1934, S. 31) für Leptothrix discophora (= L. crassa) angegebenen überein. Cholodny (1926) hält eine von Winogradsky (1888, S. 265) als L. ochracea, die von Molisch (1910, S. 21, Abb. 6) als Chlamydothrix ochracea Mig., die von Schwers (1912, S. 273) als Megalothrix discophora sowie die von Naumann (1921, S. 19, Taf. III, Abb. 1) als Clonothrix fusca beschriebenen Formen ebenfalls für L. crassa.

Die Fäden meines Materials unterscheiden sich von den früher beobachteten und beschriebenen crassa-Fäden vor allem durch ihre Breite, die doppelt so groß ist, als die Autoren angeben; die am Badener Material gemessenen Breiten sind weder für Eisenbakterien jemals angegeben worden,

noch für die Dextranscheiden des Streptococcus mesenterioides, für die Migula (1900, S. 26) einen Durchmesser von 20 μ angibt. In der Länge der Zellen stimmen die von mir untersuchten mit den der Autoren im wesentlichen überein, wenn auch Cholodny (1924, S. 294) eine Länge bis zu 5 μ angibt, während ich nur 4 μ als Maximum nachweisen konnte. Außerdem haben die Autoren verzweigte Formen reichlich gefunden, die in den Umrissen mit den von mir beobachteten vielspitzigen Fäden oder Fadensystemen übereinstimmen, und deren Natur später zu diskutieren sein wird.

Die dicken, gallertigen Scheiden meines Materials waren stets geradlinig umgrenzt und ebenmäßig zylindrisch geformt — unregelmäßig knorrige Formen, wie sie z. B. Kalipada Biswas (1937) für L. ochracea angibt, habe ich niemals wahrgenommen.

Als wichtiges Kennzeichen von L. crassa erwähnt Cholodny (1926, S. 15) die Struktur der Scheide, die nach ihm aus einem lockeren feinkörnigen Stoff besteht. Bei meinem Material war feinkörnige Beschaffenheit niemals zu bemerken, vielmehr war das Scheidenmaterial stets gleichmäßig wie klarer Bernstein.

Sehr deutlich konnte ich wiederholt eine Schichtung der Scheide erkennen — wie sie auch von Cholodny (1926, S. 20 und 127, Abb. 18) beobachtet worden ist. Dieser unterscheidet eine dicke äußere Schicht von einer dünnen inneren, die eine größere Dichte besitzt. Bei meinem Material war die innere, dunkler braun gefärbte Schicht ebenso wie der ganze Faden nach der Spitze hin verjüngt und lief entweder in einen spitzen oder abgerundeten Kegel aus. An sehr vielen anderen Exemplaren ist von solcher Schichtung freilich nichts zu sehen; selbst in vielen Fällen sehr mächtiger Scheidenentwicklung ist die ganze rostgelbe Hülle innen und außen von gleicher Farbe und von gleicher Klarheit. Es scheint mir fraglich, ob aus diesen von früheren Autoren und von mir wahrgenommenen Strukturen auf bestimmte Leistungen des die Scheiden erzeugenden Organismus geschlossen werden darf; vielleicht sind die in den Scheiden sichtbaren Differenzierungen lediglich physikalisch-chemisch zu beurteilen und mehr von der Außenwelt als von den Lebensvorgängen der Zellen bedingt. Strukturen anderer Art wurden in Leptothrix crassa niemals gefunden.

In den folgenden Zeilen will ich versuchen, mit einigen Angaben, die sich vorzugsweise auf die physikalischen Eigenschaften der crassa-Scheiden beziehen sollen, die Angaben der Autoren zu ergänzen.

Eine Untersuchung der Scheide im Polarisationsmikroskop ließ zuweilen eine schmale, zur Längsachse positiv doppelbrechende Oberflächenschicht erkennen, die allerdings an manchen Fäden nur schwach und undeutlich zu sehen war, vielen anderen ganz fehlte. An der inneren Hauptmasse der Scheiden konnte ich niemals optische Anisotropie nachweisen. Ebensowenig war an mechanisch gekrümmten Scheiden eine durch Zug oder Druck veranlaßte Doppelbrechung erkennbar.

Versuche, die eisenhaltige Scheide zu färben, blieben bei Verwendung von Rutheniumrot, Gentianaviolett und Bismarckbraun erfolglos; eine schwache Färbung erzielte ich mit Methylenblau und Neutralrot, kräftige Färbung nahmen die Scheiden in stark saurem Neutralrot an. Suessenguth (1927, S. 332) fand bei Spirophyllum eine schwache Färbung nach Zusatz von Rutheniumrot, Gentianaviolett, Methylenblau und Neutralrot, eine starke Färbung mit saurem Neutralrot.

Die starke Färbung, die die Scheidenmasse in saurer Neutralrotlösung annimmt, entspricht dem, was über das färberische Verhalten von Zellen anderer Art bekannt ist: bei Behandlung der Zellen von Allium (Epidermis der Zwiebelschuppen) färben sich die Membranen, wenn das Farbbad sauer ist [vgl. z. B. Strugger (1936)].

In Chlorzinkjod nehmen die Scheiden einen schwach schiefergrauen Ton an; für ihren Gehalt an zelluloseähnlichen Stoffen spricht vielleicht auch die starke Färbung der Scheiden nach Behandlung mit Kongorotlösung. In Kupferoxydammoniak bleiben sie unverändert.

Nach Zusatz von 5proz. Salzsäure oder konzentrierter Schwefelsäure verkürzen sich die Fäden von Leptothrix crassa um fast ein Sechstel ihrer ursprünglichen Länge; ihre Breite schrumpft auf etwa ein Drittel. An den Eisenschräubchen von Gallionella beobachtete Suessenguth (1927, S. 331) nach Einwirkung von Salzsäure ebenfalls Schrumpfung, in Schwefelsäure eine geringe Quellung.

20proz. Kalilauge, Choralhydrat, Glyzerin und Alkohol verändern die Bakterienfäden nicht; auch kochendes Wasser hat keinen Einfluß.

Wenn man die Fäden in Originalwasser eintrocknen läßt, schrumpfen sie sehr stark; durch nachträglichen Wasserzusatz läßt sich diese Veränderung nicht rückgängig machen, auch nicht durch Kochen in Wasser.

Preßt man einen isolierten Leptothrix-Faden durch Drücken mit einer Nadel auf das Deckglas, so entstehen scharfkantige Risse und Sprünge in der Querrichtung; außerdem wird die mit einem dünnen Scheidenrest umgebene Zellenreihe durch den Druck herausgesprengt; letzteres spricht für eine lockere Verbindung dieses inneren Scheidenteiles mit den nach außen hin folgenden Schichten.

Die Mitteilungen Francis' (1936) veranlaßten mich, das Verhalten der crassa-Fäden einem Magneten gegenüber zu prüfen. Ich isolierte einige Bakterienfäden und näherte diesen einen magnetischen Stahldraht, konnte jedoch keine Reaktion beobachten, auch nicht nach Berührung der Fäden mit der Stahlnadel[1]).

In meinem Material fehlte es nicht an Fäden, die zerbrochen waren. Die Untersuchung der Fragmente und insbesondere ihrer Bruchstellen versprach Einsichten in die physikalische Beschaffenheit des Scheidenmaterials.

In der Mehrzahl der Fälle sind die Bruchflächen scharfkantig; diese Beschaffenheit lassen sie nicht nur nach frischem Bruch, sondern auch später erkennen; sie geben den Fadenverbänden ein Aussehen, das einen Vergleich mit zerbrochenen Glasstäbchen oder -röhren gestattet. Wir schließen aus diesem Befund, daß die Scheiden aus einem spröden Gel bestehen.

Nicht alle Fäden verhalten sich aber in der gleichen Weise; gar nicht selten sind solche, bei welchen die Masse der Scheide nach der Zertrümmerung quillt — derart, daß zwei konvex vorgewölbte Flächen einander gegenüberstehen (Abb. 1); der Zellenfaden, den die Scheide umhüllt, kann erhalten geblieben sein und die beiden konvex endigenden Stücke noch dauerhaft miteinander verbinden.

Seltener scheint ein drittes Bild zu sein. Es wird dadurch gekennzeichnet, daß nach der Zertrümmerung die Masse der Scheiden mehr oder weniger quillt, in der Mitte der Fäden aber sich vertieft, so daß eben dort, wo die

[1]) Herrn Dr. H. Meyer (Gießen) danke ich bestens für seine Beratungen und Bemühungen bei der Durchführung dieses Versuches.

noch wohl erhaltenen Zellenfäden die Scheidensubstanz verlassen, eine kraterähnliche Vertiefung in der letzteren sichtbar wird (Abb. 2).

Von den Scheiden der Oscillatoriaceen sagt Gomont (1892, S. 280), daß ihre Konsistenz die verschiedensten Grade unterscheiden läßt. Daß die Scheiden der Oscillatoriaceen scherbenartig zerbrechen, ist schon oft beobachtet worden. Ob die von Gomont (1892, Taf. XI, Abb. 2) für Schizothrix Lamyi dargestellten Deformationen gallertiger Scheidensubstanz mit den von uns beobachteten und beschriebenen (vgl. Abb. 1 u. 2) verglichen werden können, muß dahingestellt bleiben.

Bei einem Versuch, die nach dem Zerbrechen der Leptothrix-Fäden eintretenden Deformationen zu deuten, stoßen wir auf Schwierigkeiten. Fest steht zunächst nur, daß die Scheiden unseres Materials — wie in Dicke, Schichtenbildung und Eisengehalt — sich auch hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften unterscheiden können. An den mit Abb. 1 und 2 dargestellten Fäden sind Deformationen sichtbar geworden, die entweder auf eine Aufhebung von Spannungen zurückzuführen sind, zu welcher die Aufhebung der Kontinuität des Fadens geführt hat — oder wir dürfen annehmen, daß die Bloßlegung des Inneren der Scheide und die Zerstörung der Rindenschicht eine Quellung ihres Materials — Wasseraufnahme und Volumengewinn — veranlaßt haben; vielleicht ist auch der mechanische Angriff, der der Zerlegung des Fadens vorausgeht, insofern für die nachfolgenden Veränderungen der Scheidenmasse verantwortlich zu machen, als durch ihn das Quellungsvermögen der von ihm getroffenen Anteile der Scheide verändert und gesteigert wird. Ein Blick auf Abb. 2 läßt keinen Zweifel daran, daß diese erst unvollkommen erklärbaren Veränderungen in verschiedener Weise sich vollziehen und daß die inneren und die äußeren Anteile des eisenhaltigen Gelzylinders sich bei den geschilderten Eingriffen verschieden verhalten können.

Abb. 1. Abb. 2.

Es fragt sich, ob die beobachteten Formveränderungen vielleicht auf Änderung des Aggregatzustandes der Scheidensubstanz zurückzuführen sind, oder ob wenigstens die von uns an Bruchstellen beobachteten Erscheinungen auf Veränderungen weisen, die einer Verflüssigung der Scheidensubstanz nicht unähnlich sind. Ich würde nicht wagen, gegenüber den soeben geschilderten Erscheinungen eine solche Vermutung zu äußern, wenn ich nicht noch in anderem Zusammenhange zu denselben Gedankengängen geführt worden wäre. Von diesen soll im folgenden die Rede sein.

Von vielen niederen fadenbildenden Organismen ist bekannt, daß sie sich sehr oft um eine fremde Stütze rechtswindend oder linkswindend legen [Pilze, Siphoneen, Cyanophyceen usw.; vgl. Küster (1935, S. 452)]; solche Erscheinungen sind auch für Bakterien, insbesondere eisenspeichernde, bekannt [z. B. Cholodny (1926, S. 25) über Leptothrix volubilis].

Für L. crassa ist ähnliches bisher nicht beobachtet worden — soweit ich aus der mir bekannt gewordenen Literatur folgern darf. Mein Schwarz-

wälder Material war reich an „windenden" Bakterienfäden von L. crassa: stets waren es Eumyceten-Hyphen, die von L. crassa umwunden und umwickelt wurden — bald in steilen Windungen, bald in sehr flachen. An diesen „windenden" Stücken mußte es auffallen, daß die Scheidenbildungen zuweilen besonders stark waren, und noch mehr, daß die braune Scheidenmasse so oft sphärisch gerundete Oberflächen entwickelte und zu kugelig geformten Stücken sich ballte (Abb. 3 a und b), so daß der Anschein erweckt wurde, daß die Scheidensubstanz, den Gesetzen der Kapillarität gehorchend, wenigstens hie und da kugelig sich geformt hätte. War die Scheidensubstanz in solchen Fällen vielleicht wenigstens vorübergehend so weit verflüssigt gewesen, daß eine kapillar bedingte Formung möglich wurde? Zu der Zeit meiner Untersuchungen waren freilich die hier abgebildeten Massen niemals als flüssig schlechthin zu bezeichnen; niemals ließ sich die Substanz unter dem Mikroskop schlierig oder sirupartig deformieren. Optische Phänomene besonderer Art wurden bei Untersuchungen zwischen gekreuzten Nikols auch an den beschriebenen deformierten Scheidenmassen niemals festgestellt.

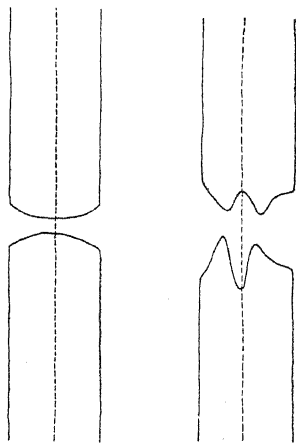
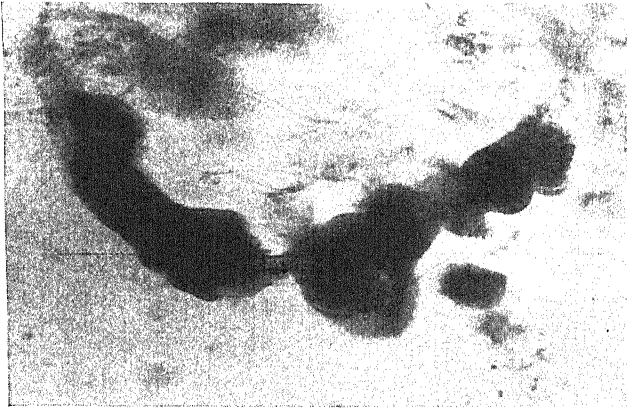
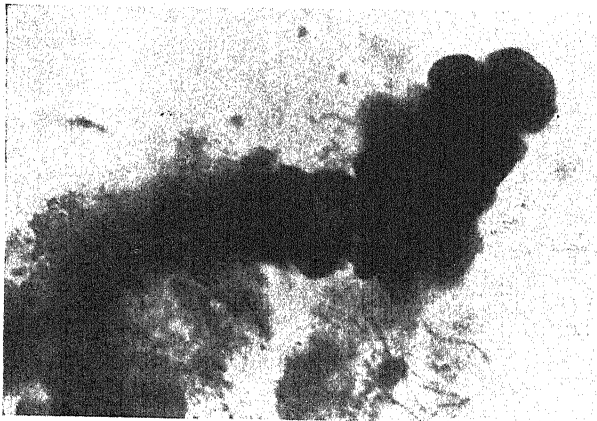



Abb. 3 a.

Abb. 3 b.

In ähnlicher Richtung bewegen sich die Betrachtungen, die ich bei der Untersuchung gebogener oder zu Gruppen aneinandergelegter Fäden anstellte.

Irgendwelche mechanischen Hinderungen sind es wohl, welche die Fäden von L. crassa oftmals zur Schlingenbildung bringen: entweder es entstehen U- oder V-förmige Figuren, wenn streckenweise Fadenstücke parallel oder divergent nebeneinander liegen, oder es gibt γ-artige Schlingen, wenn die Fäden sich überschneiden (vgl. die Schemata in Abb. 4).

Darüber, wie solche V- und γ-förmigen Schlingen zustande kommen, kann ich nur vermutungsweise mich aussprechen; es wäre möglich, daß mechanische Einwirkungen der Außenwelt einen ursprünglich geradegestreckten Faden in Schlingenform biegen; es wäre ebensogut vorstellbar, daß durch die Außenwelt ein Faden in seiner Lage fixiert wird, und daß nachfolgendes (terminales oder interkalares) Längenwachstum ihn in Schlingenform bringt: in beiden Fällen müßten, um die vorliegenden Bilder zustande zu bringen, die beiden stark umscheideten Schenkel des U oder V sich berühren und, wie wir annehmen, miteinander irgendwie zusammenfließen. Eine solche Folgerung würde nur dann zu umgehen sein, wenn wir annehmen dürften, daß das mittlere Stück einer Zellenreihe sich schlingenartig biegt, daß aber dabei die auf der konkaven Seite liegende Flanke der Scheide ihre gestreckten Umrisse behielte; ein solches Geschehen liefe auf eine ungleich starke Gallert- und Scheidenbildung seitens des Bakterienfadens hinaus; eine solche habe ich niemals beobachtet, vielmehr sind die Fäden meines Materials, wie bereits oben betont wurde, stets durch ihre zylindrische Form und den axialen Verlauf der in ihrer Mitte liegenden Zellenreihen gekennzeichnet. Gegen eine solche Annahme einer Bruchsackbildung der Zellenfäden, die ohne Biegung des ganzen umscheideten Fadens sich vollzieht, spricht weiterhin der in Abb. 4 b mitgeteilte Befund, der durch den an der der Schlinge entgegengesetzten Flanke sichtbar bleibenden Einschnitt gekennzeichnet wird.

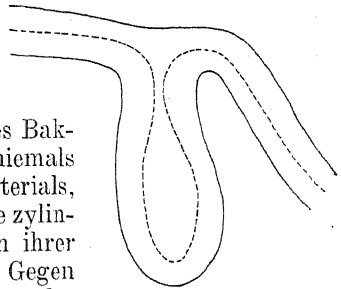



Abb. 4 a.

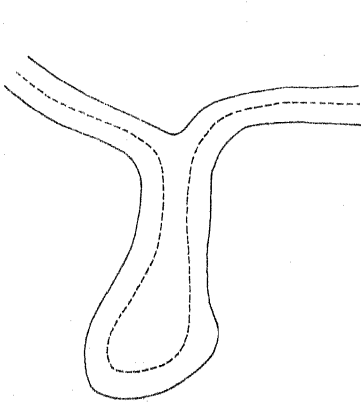
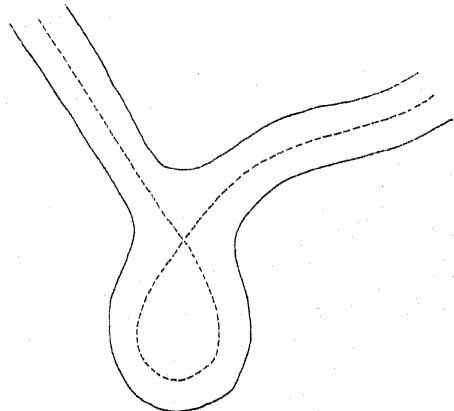



Abb. 4 b. Abb. 4 c.

Gegen gezwungene Hilfsannahmen dieser Art und für die Annahme, daß die gallertigen Scheiden sich vereinigen können, spricht aber vor allem das Auftreten retikulater Fadensysteme, wie sie in Abb. 5 dargestellt sind. In dem Fremersberger Material waren Systeme solcher Art nicht eben selten.

Indem ich die in Rede stehenden Bilder als retikulat bezeichne, greife ich auf einen Speziesnamen zurück, den N a u m a n n (1921, S. 45) einer von ihm, später anscheinend nie wieder beschriebenen Form gegeben hat.

Naumanns Beschreibung ist allzu kurz, als daß sich entscheiden ließe, ob ihm vielleicht ähnliche Dinge vorgelegen haben wie mir bei Untersuchung des Baden-Badener Materials. Es handelt sich bei diesem um Fäden, die in der Ebene oder im Raum und in allen beliebigen Richtungen übereinander lagen, sich überschnitten und hie und da miteinander verschmolzen waren. So entsteht ein netzähnliches Gebilde, in dessen breiten, braunen Strängen überall die Bakterienzellreihen erkennbar bleiben. Daß es sich hier tatsächlich um eine Fusion handelt, erschließe ich namentlich aus denjenigen Stellen, an welchen die braune Masse an den Kreuzungsstellen nicht spitz- oder stumpfwinkelig von geraden Linien umrissen erscheint, sondern deutliche Rundungen zustande gekommen sind (vgl. Abb. 5). Diese Rundungen

Abb. 5.

lassen keinen Zweifel daran, daß die Gallertmasse wenigstens vorübergehend in einem Aggregatzustand sich befunden haben muß, in welchem die Oberflächenspannung sie formte. An allen denjenigen Stellen, für welche wir eine solche Fusion annehmen müssen, sind auch die einander auf dem optischen Querschnitt mit Parallelogrammfiguren sich überschneidenden Umrisse je zweier brauner Stränge nicht mehr sichtbar (vgl. Abb. 5).

Es wird nicht leicht sein, eine Erklärung dafür zu finden, daß die Substanz der eisenhaltigen Scheiden bald als festes, sprödes Gel anzusprechen ist, bald durch Fusionsvorgänge sich als flüssiges Sol zu erkennen gibt.

Herr Dr. R. E. Liesegang[1]) (Frankfurt) hatte die Güte, mich darauf aufmerksam zu machen, daß Gelatine durch Eisenchlorid stark gegerbt wird, bei Belichtung aber die Gerbewirkung wieder aufgehoben wird, indem das Eisenchlorid zu Eisenchlorür reduziert wird; der Vorgang ist reversibel: auf die Entgerbung kann bei Verdunklung wieder Gerbung folgen. Da die Entgerbung die vorher feste und gegerbte Gelatine in einen weichen, klebrigen Zustand überführt, liegt es nahe, die von Herrn Dr. Liesegang beobachteten Erscheinungen zur Erklärung der hier beschriebenen Erscheinung einer Veränderung der Eisenbakterienscheiden heranzuziehen. Von einer Wirkung des Lichtes kann bei meinen Beobachtungen wohl kaum die

[1]) Herrn Dr. R. E. Liesegang sage ich für die von ihm ausgesprochenen Anregungen meinen besten Dank.

Rede sein; vielleicht dürfen wir aber mit der Möglichkeit rechnen, daß auch andere Faktoren eine ähnliche reversible Erweichung der vererzten Scheidenmassen herbeiführen können.

Der Umstand, daß wir hier Verflüssigungen der Scheidensubstanz für diejenigen Fälle annehmen konnten, in welchen die Scheiden in Berührung mit fremden oder arteigenen Fäden geraten, könnte vielleicht zu der Annahme führen, daß die Änderung des Aggregatzustandes der Scheidenmassen durch die Berührung verursacht worden wäre, und daß Erscheinungen im Spiele sein könnten, die der Thixotropie vergleichbar wären. Nachdem aber bei Versuchen, durch starke mechanische Pressung auf die Beschaffenheit der Scheiden zu wirken, trotz der erheblichen Stärke des Druckes keine Änderungen des Aggregatzustandes erkennbar geworden sind, läßt sich die Annahme einer Verflüssigung der Scheidensubstanz durch Thixotropie vorläufig nicht rechtfertigen. —

Man hat gesagt [vgl. z. B. Winogradsky (1888, S. 265)], daß die Schwärmer von Leptothrix [Molisch (1910, S. 43) beschreibt ähnliches für Clonothrix] sich oftmals an einem Faden gleicher Spezies anheften und an ihm, wenn sie ihrerseits einen Faden geliefert haben, das Bild einer Verzweigung zustande kommen lassen. Ich habe an meinem Material keine Verzweigungsbilder wahrgenommen, die mit Bestimmtheit auf das beschriebene epiphytische Wachstum hätten schließen lassen. Auch unechte Verzweigungen habe ich an meinem Material nicht nachweisen können. Andererseits ist gewiß, daß weder dieser noch jener Vorgang an sich genügen könnte, das Zustandekommen der retikulaten Gebilde zu erklären. Daß bei unechter Verzweigung umscheideter Fäden Systeme entstehen können, welche den unserer kreuzweise gelegten Leptothrix-Fäden ähnlich sind, ist nicht zu bezweifeln [vgl. z. B. Abbildung von Plectonema Fortii nach Frémy bei Geitler (1932, S. 690, Abb. 443)]; sollten unter den von uns an Leptothrix beobachteten Fadensystemen solche sich finden, die einer unerkannt gebliebenen unechten Verzweigung ihre Entstehung verdanken, so blieben für alle Fälle die uns vorliegenden Bilder ohne die Annahme einer Fusion der Scheidenmasse unerklärbar.

Nicht selten sind im Baden-Badener Material crassa-Fäden, bei welchen 2, 3, selten 4 Zellreihen in einer braunen Scheide nebeneinanderlagen. Benecke (1912, S. 162) hat auch bei Cladothrix natans beobachtet, daß innerhalb einer Scheide mehrere Zellenfäden nebeneinanderliegen. Daß solche Bildungen durch unechte Verzweigung zustande kommen könnten, darf wohl nicht ausgeschlossen werden; der Verlauf der gebündelten Fäden macht es aber wahrscheinlich, daß es sich bei ihnen um Fusionsprodukte handelt, die durch streckenweise vollzogene Verschmelzung annähernd parallel nebeneinanderliegende, Fäden zustande gekommen sind. Ich möchte bei dieser Gelegenheit betonen, daß die Dickenmessungen, deren Ergebnisse oben mitgeteilt sind, sich auf Scheiden beziehen, die nur einen Zellfaden enthielten und keinesfalls als Fusionsprodukt anzusprechen waren.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine Form von Leptothrix crassa beschrieben, deren Scheidenbreite (bis zu 30 μ) die von früheren Autoren angegebene bei weitem übertrifft.

2. Die neue Form vermag Fremdkörper, wie Pilzhyphen, zu umwinden.

3. Übereinanderliegende Bakterienfäden können mit ihren Scheiden verschmelzen, ein Beweis dafür, daß die Substanz der Scheiden sich vorübergehend verflüssigen kann. Vermutungsweise wird dieses Phänomen zurückgeführt auf einen vorübergehenden Verlust der Eigenschaften, welche die Gallerte der Scheiden durch die gerbende Wirkung des Eisens bekommt.

Die Bearbeitung der hier behandelten Erscheinungen wurde mir durch einen Aufenthalt im Botanischen Institut zu Gießen, dieser durch die dem Institutsdirektor gewährten Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht.

Literaturverzeichnis.

Benecke, W., Bau und Leben der Bakterien. Leipzig und Berlin 1912. — Cholodny, N., Über neue Eisenbakterienarten aus der Gattung Leptothrix Kütz. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 61. 1924. S. 292.) — Cholodny, N., Die Eisenbakterien. Beiträge zu einer Monographie. (Pflanzenforsch., hrsg. von R. Kolkwitz. Heft 4. Jena 1926.) — Dorff, P., Die Eisenorganismen. Systematik und Morphologie. (Pflanzenforsch., hrsg. von R. Kolkwitz. Heft 16. Jena 1934.) — Francis, W. D., The Magnetic Interpretation of Life based upon experimental Evidence. Published by the writer. 1936. — Geitler, L., Cyanophyceae. (Rabenhorsts Kryptogamenflora. Bd. 14. 1932.) — Gomont, M., Monographies des Oscillariées (Nostocacées, Homocystées). (Ann. Sc. Nat. Botanique. Sér. VII. T. 15. 1892. p. 263.) — Kalipade Biswas, Studies on Indian Iron-bacteria. (Biologia generalis. Vol. 13. 1937. p. 421.) — Küster, E., Die Pflanzenzelle. Jena 1935. — Migula, W., Systematik der Bakterien. Bd. 2. Jena 1900. — Molisch, H., Die Eisenbakterien. Jena 1910. — Molisch, H., Pflanzenbiologie in Japan auf Grund eigener Beobachtungen. Jena 1926. — Naumann, E., Untersuchungen über die Eisenorganismen Schwedens. I. Die Erscheinungen der Sideroplastie in den Gewässern des Teichgebietes Aneboda. (Kungl. Svenskapsakad. Handl. Bd. 62. 1921. Teil 4.) — Schwers, H., Megalothrix discophora, eine neue Eisenbakterie. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 33. 1912. S. 273.) — Strugger, S., Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. (Protoplasma. Bd. 26. 1936. S. 56.) — Suessenguth, K., Zur Kenntnis der Eisenbakterien der Gallionella-Gruppe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 69. 1927. S. 327.) — Winogradsky, S., Über Eisenbakterien. (Bot. Zeit. Bd. 46. 1888. S. 261.)

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Appel, O., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 6. Band: Pflanzenschutz (Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten). 2. Lieferung (S. 289—576). Berlin (Paul Parey) 1938. Preis 16,30 RM.

Die vorliegende Lieferung ist der physikalischen, chemischen und biologischen Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschädlinge gewidmet. In dem Abschnitt der physikalischen Bekämpfungsmaßnahmen (Trappmann) werden in sehr eindringlicher und klarer Art die verschiedenen Maßnahmen der Vernichtung der Schädlinge durch mechanischen Druck, die Mittel der Fernhaltung, die Möglichkeiten des Fanges durch Einsammeln und Anlockung und die Anwendung von Wärme, Kälte, Elektrizität, Magnetismus und Strahlen besprochen und durch eine Reihe guter Abbildungen anschaulich ergänzt. Sehr umfangreich ist die Darstellung der chemischen Bekämpfungsmaßnahmen (Hilgendorff, Fischer, Trappmann, Winkelmann und Tomaszewski). Eine Fülle chemischer Verbindungen werden hier behandelt und wir ersehen deutlich, welche Arbeit auf diesem Gebiete in den letzten Jahrzehnten geleistet worden ist. Trotz

der Häufung von Einzeltatsachen ist doch stets der Zusammenhang und die Übersichtlichkeit gewahrt geblieben. Es heben sich klar die Problemstellungen ab, die für die Arbeiten der kommenden Jahre auf diesem Gebiete richtungweisend sein werden. Ich erwähne hier nur den Ersatz von Mitteln, deren „Nebenwirkungen" unerwünscht sind (z. B. Arsenverbindungen) oder, speziell für deutsche Verhältnisse, den Ersatz von Verbindungen, deren Darstellung durch den Mangel an Rohstoffen erschwert ist. Die Behandlung der rein chemischen Fragen ist auf das unbedingt notwendige Maß beschränkt. Auf breitestem Raum wird der Anwendungsbereich der einzelnen Pflanzenschutzmittel erörtert, wobei auch auf die Möglichkeit von Schädigungen der Nutzpflanzen und auf die Wirkung des Mittels auf Mensch und Tier nachdrücklichst hingewiesen wird. Wie umfassend die Bearbeitung erfolgt ist, dafür möge hier als Beispiel angeführt werden, daß auch die verschiedenen Theorien der Giftwirkung der chemischen Verbindungen auf Krankheitserreger und Schädlinge besprochen werden. Gelegentlich sind auch geschichtliche Hinweise eingestreut, die uns bis in die Anfänge des Pflanzenschutzes und der Anwendung der Pflanzenschutzmittel zurückführen. — Große Bedeutung kommt in diesem Zusammenhange der amtlichen Prüfung der Pflanzenschutzmittel zu. Wir müssen hierbei zwischen der biologischen Prüfung und den physikalischen und chemischen Prüfverfahren unterscheiden. Der erstgenannte Teil befaßt sich mit der Prüfung von Fungiziden, Unkrautbekämpfungsmitteln und von Pflanzenschutzmitteln gegen tierische Schädlinge (Winkelmann und Klinger). Ein Anhang vervollständigt diese Ausführungen durch Richtlinien für die Prüfung von Nematoden- und Mäusebekämpfungsmitteln. Beschlossen wird diese Lieferung mit der Darstellung der physikalischen Eigenschaften der Pflanzenschutzmittel (Hilgendorff und Fischer), wobei Stäubemittel, Spritzmittel und besondere Mittel getrennt behandelt werden. *M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).*

Kirschstein, W., Ascomycetes. (Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Bd. 7, Liefg. 3. S. 305—448. Berlin (Verl. Borntraeger) 1938. Preis 12 RM.

Da eine grundlegende Änderung und Neuaufstellung des Systems der Askomyzeten erst möglich sein wird, wenn die zahlreichen Lücken in den Kenntnissen über den Zusammenhang von Haupt- und Nebenfruchtformen, über die Variabilität in der Gestalt und Größe der Sporen und über den Bau der Fruchtkörper durch umfassende Reinkulturstudien geklärt sein werden, hält der Verf. es für zweckmäßig, sich bei der vorliegenden Bearbeitung der Sphaerellaceae mit der Verbesserung der Unvollkommenheiten des alten Systems zu begnügen. Wie problematisch noch vieles in der Askomyzetensystematik ist, zeigt beispielsweise die Gattung Guignardia, bei der die Ein- und Zweizelligkeit der Sporen als unwesentlich gilt, während das Fehlen der Paraphysen das wesentlichste Unterscheidungsmerkmal von Physalospora darstellt. Da die Paraphysen einerseits äußerst vergängliche Gebilde sind und andererseits auch mit fädigem Füllgewebe im Schlauchballen verwechselt werden, ist es durchaus wahrscheinlich, daß eine Durcharbeitung der fraglichen Gattungen an Hand von Reinkulturen dazu führen wird, daß Guignardia wieder eingezogen und mit der älteren Gattung Physalospora vereinigt wird.

Unter den 14 aufgeführten und mit Bestimmungsschlüsseln versehenen Gattungen wird für Mycosphaerella wieder der alte Name Sphae-

rella eingesetzt. Leider können von den 4 neubeschriebenen Gattungen nur die Namen Batschiella und Mycotodea beibehalten werden; denn Thyrospora und Jaapia sind bereits als Dematiaceengattung (Thyrospora Tehon et Daniels: Phytopath. Vol. 15. 1925. p. 718) und Hymenomyzetengattung (Jaapia Bres.: Ann. Mycol. Vol. 9. 1911. p. 428) vergeben. Im übrigen bringt die Bearbeitung 5 neue Namen, 28 Neukombinationen und die Beschreibung von 17 neuen Arten.

H. Richter (Berlin-Dahlem).

Allgemeines und Methodisches.

Steigler, A., Eine neue praktische Blutagarplatte. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 17. 1938. S. 1410.)

Durch Zusatz von Resorcin (Metadioxylbenzol) zu Blutagar (13 ccm Agar, 1 ccm Blut, 1 ccm 0,5proz. sterile Resorcinlösung) erhält man einen Nährboden, der die Isolierung und Differenzierung von Pneumokokken und Enterokokken sehr erleichtert. Pneumokokken und Enterokokken, Typ A, wachsen mit einem typischen intensiv braunen Hof (durch Methämoglobinbildung), Enterokokken, Typ B, ohne diesen. Die Pneumokokken zeichnen sich weiter aus durch flache, die Enterokokken dagegen durch gewölbte Kolonieform. Zur sicheren Unterscheidung der braun wachsenden Kolonien ist gegebenenfalls noch die Gallenprobe und der Mäuseversuch heranzuziehen; die Pneumokokken werden durch Galle aufgelöst und sind mäusepathogen, die Enterokokken zeigen in der Regel das umgekehrte Verhalten.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Ehrismann, O., Über anaerobes Bakterienwachstum in synthetischen Nährlösungen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 273—280.)

Für die anaerobe Züchtung von Bakterien in synthetischen Nährlösungen sind folgende 2 Punkte von besonderer Wichtigkeit: 1. Außer einer Energiequelle muß ein Wasserstoffakzeptor vorhanden sein. Ohne diesen gelingt es zwar bei Gegenwart eines spaltbaren Zuckers gewisse Bakterien lange am Leben zu erhalten, aber deutliches Wachstum tritt nicht ein. Als Wasserstoffakzeptoren kommen namentlich Fumarsäure, Nitrat, bestimmte Aminosäuren sowie Brenztraubensäure in Betracht. 2. Ebenso unentbehrlich scheinen gewisse Substanzen zu sein, die für die Lage des Redoxpotentials bzw. für die Erhaltung desselben von Bedeutung sind. Das gilt vor allem für Cystein bzw. Cystin; auch Vitamin C (Askorbinsäure) wirkt auf gewisse obligate Anaerobier zum mindesten wachstumsfördernd.

Bisher gelang es, Tetanus-, Gasbrand-, Botulinus-, Rauschbrand-, Pararauschbrand- und Putrificusbazillen in synthetischen Nährlösungen zu züchten, und zwar mindestens bis zur 6. Passage. In vielen Fällen verloren die Krankheitserreger ihre Virulenz, doch konnten mit Tetanus- und Gasbrandbazillen vereinzelt bei der Maus bzw. beim Meerschweinchen nach der Züchtung in 6 Passagen noch typische Krankheitsbilder hervorgerufen werden. Die Sporenbildung war in den synthetischen Lösungen bei Putrificus, Botulinus und Rauschbrand gut, bei Tetanus etwas vermindert.

Bei anaerober Züchtung von Diphtheriebakterien in synthetischen Nährlösungen entstanden oft atypische Formen (insbesondere Kugelformen). In einzelnen Fällen verloren die Stämme auch kulturmorphologisch ihr typisches Verhalten. Die Virulenz ging meist zurück. Das Invasionsvermögen im Meerschweinchen blieb jedoch in der Mehrzahl der Fälle erhalten.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Pels Leusden, Fr. und Albrecht, E., Die Unterscheidung pathogener und apathogener pflanzlicher Mikroorganismen durch die Kultur. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 141. 1938. S. 233—246.)

Alle geprüften pathogenen Keime wuchsen auf asziteshaltigen Nähr-

böden ebensogut bzw. meist besser als auf den entsprechenden Kontrollen ohne Aszites. Auch entwickelten sie sich auf hochwertigen Nährmedien naturgemäß gewöhnlich besser als auf minderwertigen und bei 37° besser als bei 20°. Stärkere Abweichungen von dieser Norm sind im Sinne der Apathogenität der betreffenden Keime zu werten.

Als besonders geeignet erwies sich stark eiweißhaltiger Aszites, doch ist darauf zu achten, daß der p_H des fertigen Agars durch den Aszites-Zusatz (p_H bis 7,8) nicht zu stark alkalisch wird. Das Verhältnis von Aszites : Nähragar betrug, wie üblich, 1 : 3 bis 1 : 4.

Versuche machen es wahrscheinlich, daß die Hemmung von Aszites gegenüber apathogenen Bakterien durch den Gehalt an Lysozym bedingt ist.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Rehberg, H., Reinigen alter Filtermasse unter Anwendung von Natriumhypochlorit. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 185—186.)

Zur Verbesserung der biologischen Reinheit der Filtermasse wurde in neuerer Zeit mit Erfolg die Verwendung von Wasserstoffsuperoxyd empfohlen. Versuche mit dem billigeren Natriumhypochlorit haben zu sehr befriedigenden Ergebnissen geführt, die Faser wird gut aufgelockert, die Masse selbst rein weiß. Das Adsorptionsvermögen so gereinigter Masse ist größer als das neuer Masse, damit wird auch die biologische Haltbarkeit des filtrierten Bieres verbessert, ohne daß bei gutem Auswaschen ein ungünstiger Einfluß auf den Geschmack des Bieres zu befürchten ist. Die bekannten, in der Brauerei viel benutzten chlorhaltigen Desinfektionsmittel Antiformin, Antifermentin und ä. enthalten ja neben Alkali als wirksamen Bestandteil gleichfalls Natriumhypochlorit, ohne daß ihrer Verwendung Bedenken entgegenstehen.

Heuß (Berlin).

Mueller, J. H., A synthetic medium for the cultivation of C. diphtheriae. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 499—515.)

Die Entwicklung eines Diphtherie-Bakterienstammes in synthetischer Nährlösung von verhältnismäßig einfacher Zusammensetzung konnte durch Erhöhung des Gehalts an gewissen Bestandteilen, vor allem d-Milchsäure und Cystin sowie durch Zufügung geringer Mengen von Eisen-, Mangan-, Kupfer- und Zinksalzen wesentlich gefördert werden. Die Ernten an Bakterienstickstoff stiegen hierdurch auf das 3—4fache. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Conn, H. J., and **Wolfe, G. E.**, Flagella staining as a routine test for bacteria. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 517—520.)

Als einfach und schnell ausführbar wird folgende Geißelfärbe-Methode empfohlen: Nach Herstellung der Ausstriche von jungen Kulturen in der üblichen Weise und unter Beachtung der bekannten Vorsichtsmaßnahmen wird nach der Methode von Gray gebeizt, wobei folgende Mischung 8 bis 10 Min. lang in der Kälte zur Einwirkung kommt: 5 ccm gesättigte wässerige Lösung von Kalialaun, 2 ccm gesättigte wässerige Sublimatlösung, 2 ccm einer 20proz. wässerigen Tanninlösung und 0,4 ccm einer gesättigten alkoholischen Lösung von basischem Fuchsin. Es ist ratsam, diese Beize unmittelbar vor Gebrauch zu filtrieren. Nach dem Beizen werden die Präparate etwa 10 Sek. lang in fließendem Wasser gewaschen, dann ohne Erhitzen getrocknet und 5 Min. lang mit Ziehls Karbolfuchsin kalt gefärbt. Nach Abwaschen unter fließendem Wasser wird untersucht. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Chejfetz, M. A., Die experimentelle Nachprüfung der Methodik der Mikroplatten von Frost zur quantitativen Bestimmung der Mikroben. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 2. 1938. S. 219—227.) [Russisch.]

Es wurde die Methode von Frost zur quantitativen Bestimmung der Mikroben nachgeprüft, wobei man ihre Resultate mit denen der Methode von Koch verglichen hat. Die Frostsche Methode erwies sich als geeignet zur Bestimmung der Mikrobenmenge in verschiedenen Lebensmitteln, welche jedoch an Mikroflora nicht zu arm sind und keine bakteriziden Stoffe enthalten. Die Methode hat den Vorteil, daß sie viel weniger Zeit erfordert, sodann einfacher und billiger ist, als die von Koch.

M. Gordienko (Berlin).

Zobell, C. E., and Bittenberg, S. C., An asbestos KCl bridge and a simple calomel electrode. (Science. Vol. 80. 1937. p. 502.)

Es wird eine einfache, im Laboratorium leicht herzustellende Kalomelelektrode mit festverbundener KCl-Brücke beschrieben, welche besonders zur p_H- und r_H-Bestimmung in verschiedenen Schichten von anaeroben Kulturen u. a. geeignet ist. *C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).*

Vierthaler, R. W. und Shaw, Ch., Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Suspensions- und Keimträgermethode zur Prüfung von Desinfektionsmittellösungen. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 120. 1938. S. 642—657.)

Die Abtötungszeit von Keimen in einer Desinfektionsmittellösung erfährt mit zunehmender Keimdichte eine Hemmung. Diese verläuft aber nicht etwa parallel zur Zunahme der Keimdichte, sondern ändert sich zuerst nur allmählich, um beim Erreichen großer Keimdichten rasch zuzunehmen. Die Folge ist, daß bei Einsaat großer Mengen von Testkeimen in eine Desinfektionsmittellösung schon geringe Unterschiede ihrer Dichte zu erheblichen Schwankungen im Prüfungsergebnis führen. Das gilt sowohl für die Suspensions- als auch für die Keimträgermethode. Als geeignete Keimdichte werden 3 Tropfen einer mit 10 ccm Flüssigkeit abgeschwemmten, gut bewachsenen Schrägagarkultur auf 2—3 ccm Desinfektionsmittellösung empfohlen.

Die Frage, ob die Suspensionsmethode oder die Keimträgermethode den Vorzug verdient, wird dahin beantwortet, daß es ganz auf den Zweck der Desinfektionsmittelprüfung ankommt; denn sie stellen nicht die gleichen, sondern unterschiedliche Eigenschaften eines Mittels fest. Die Suspensionsmethode ist dann angebracht, wenn ausschließlich über die bakteriziden Eigenschaften eines Mittels entschieden werden soll. Die Keimträgermethode dagegen gibt Auskunft über das chemisch-physikalische Verhalten der Desinfektionsmittellösung einer bestimmten Oberfläche gegenüber. Beide Methoden ergänzen sich also, und die Gegenüberstellung der mit ihnen gewonnenen Versuchsergebnisse schafft in vielen Fällen erst eine für die Desinfektionspraxis wertvolle Beurteilung eines Desinfektionsmittels.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Hanne, R., Die Wirkung einiger Desinfektionsmittel gegen verschiedene Bakterien. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 119. 1938. S. 125—140.)

Die Suspensionsmethode gibt bessere Vergleichswerte bei der Beurteilung der Wirkungsstärke der Desinfektionsmittel als die Keimträgermethode. Zur Vereinheitlichung des Prüfungswesens von Desinfektionsmitteln wird folgende einfache Methodik vorgeschlagen:

Ein 20-ccm-Reagenzglas wird mit der Desinfektionsflüssigkeit bis eben unter den Rand gefüllt, um bei der Probenahme jede Berührung der Glaswand mit der Platinöse sicher auszuschalten. Nachdem die Desinfektionslösung mit 3 Tropfen Aufschwemmung einer 24stünd. Kultur der zu prüfenden Bakterienart mittels Pipette zugefügt worden sind, werden alle 2 Min. bis zur Gesamtdauer von 16 Min. — ohne

eine besondere Durchmischung vorzunehmen — mittels Platin-Normalöse Proben entnommen und in 10 ccm Nährbouillon übertragen. Bei einiger Übung können ohne weiteres 8 Einzelversuche gleichzeitig durchgeführt werden. Ein Ergebnis soll erst dann als richtig und gesichert angesehen werden, wenn es in mindestens 3, besser 4 oder 5 Versuchen so ausfällt, daß die Grenze zwischen Leben und Abtötung der Keime innerhalb eines Zeitraumes von 2—16 Min. liegt. Als sehr guter Testkeim hat sich Bact. coli erwiesen. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Böcker, O. E., Über die keimtötende Wirkung des Knoblauchs (Allium sativum). (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 121. 1938. S. 166—180.)

Die Versuche von Laubenheimer über die keimtötende Fernwirkung des Knoblauchs gegenüber Mikrokokken konnten bestätigt werden. Knoblauchbrei übte bereits in einer Menge von 0,1 g eine deutliche Wirkung aus, die bis zu einer Entfernung von 20 cm nicht abnahm. Dicht bewachsener Bakterienrasen wurde allerdings erst nach mehreren Tagen abgetötet (bei Verwendung von 1 g Knoblauchbrei in 4 Tagen). Die stärkste Wirkung ergab sich bei 37°. Sterile Nährböden, auf die Knoblauchbrei aus einer gewissen Entfernung eingewirkt hatte, wurden für mehrere Tage derartig verändert, daß keine Bakterien wuchsen. Als Ursache der keimtötenden Wirkung des Knoblauchs konnten flüchtige Bestandteile nachgewiesen werden; Strahlung und Kontaktwirkung konnten ausgeschlossen werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Sabalitschka, Desinfektion, Sterilisation und Konservierung. (Chemiker-Ztg. Bd. 62. 1938. S. 713.)

Widerstandsfähige Sporenbildner in medizinisch angewandten Lösungen oder in Alkohol kann man durch alleinige Anwendung von Antiseptika, die ausreichend ungiftig und reizlos sind, nicht abtöten, ihre Vermehrung kann man jedoch durch p-Oxybenzoeester unterbinden. Die Abtötung gelingt nur, wenn man gleichzeitig eine Temperatur von 100° einwirken läßt. — Durch sachgemäße Verarbeitung lipoidlöslicher Antiseptika mit Fett oder fettähnlichen Grundstoffen kann man Zubereitungen von hoher bakterizider Wirkung herstellen. — Natriumbenzoat ist zur Konservierung nicht genügend saurer Materialien unbrauchbar, für diesen Zweck sind die Natrium- oder Kalziumverbindungen der p-Oxybenzoesäureester geeignet — .Antimikrobisch wirksame Konservierungsmittel verhindern nicht das Ranzigwerden der Fette durch Oxydation, auch als Antioxydantien eignen sich bestimmte, ungiftige Ester. *Heuß (Berlin).*

Bertuzzi, A., Il fenomeno oligodinamico da metalli a distanza, nella teoria fisico-chimica e nell' applicazione all' industria enologica. [Die oligodinamische Wirkung der Metalle in der physiko-chemischen Theorie und in der Anwendung in der Weinindustrie.] (Annali Tecn. Agr. Jahrg. 11. Heft 1. 1938. S. 37—46.)

Folgende Betrachtungen haben Verf. zur Schlußfolgerung veranlaßt, daß die „Wirkung" der Metalle auf die Mikroorganismen nicht Strahlungen, sondern Metalldämpfen zuzuschreiben sei: 1. handelt es sich um eine anhäufbare, versetzbare Entität; 2. ist die Wirkung eine größere für die Metalle mit höherer Dampfspannung (Hg, Cd, Pb); 3. verursachen die Metalle dieselben Veränderungen in dem Plasma, sowohl durch „Fern-Wirkung" wie durch Ionen-Lösung; 4. durch „Fern-Wirkung" von Metallen wird die elektrische Ladung der Ampholyten herabgesetzt. Zum Schluß schlägt Verf. die

Anwendung von Metalldämpfen für die Sterilisierung von veränderlichen Produkten (Most usw.) vor. *Pesante (Rom).*

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Bachmann, W. und **Bock, M.**, Über einen anaeroben Mundstreptokokkus. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. H. 3/8. 1937. S. 86—89.)

Beschreibung eines Streptokokkus, der zunächst nur anaerob anging. Nach mehreren Passagen wuchs er aber auch ohne Sauerstoffzehrung bei Luftabschluß und bei Verwendung von blut- und hämoglobinhaltigen Nährböden (Vollblutagar, Levinthalagar). Unter anaeroben Bedingungen erfolgte Entwicklung — außer auf bzw. in blut- und hämoglobinhaltigen Nährmedien — auf Bouillon- und Traubenzuckeragar, nicht dagegen in Fleischbrühe und Leberbouillon sowie auf Milchzuckeragar. Keine Gas- bzw. Schwefelwasserstoffbildung. Apathogenität gegenüber Mäusen bei subkutaner und intraperitonealer Einspritzung. Hieraus kann allerdings nicht geschlossen werden, daß es sich um belanglose Saprophyten handelt; denn auch der als Sepsiserreger häufig vorkommende anaerobe Strept. putrificus liefert bei entsprechenden Virulenzprüfungen meist ein negatives Ergebnis. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Shigeno, K., Über die immunisatorische Einteilung von Pneumokokken. (Ztschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Therapie. Bd. 93. 1938. S. 375—384.)

Äskulin eignet sich nicht zur Unterscheidung der Pneumokokken von anderen Streptokokken. Gewisse Pneumokokkentypen spalten es, andere wieder nicht. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Wüstenberg, J., Die Bedeutung der Typendifferenzierung der hämolytischen Streptokokken für die Praxis. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 140. Heft 3/8. 1937. S. 86—86.)

Nachdem es gelungen ist, die Spontanagglutination der Streptokokken durch Vorbehandlung mit 0,5—1proz. Antiforminlösung zu beseitigen, wird die Typendifferenzierung der hämolytischen Formen epidemiologisch und vor allem therapeutisch bedeutungsvoll. In Deutschland kommen hauptsächlich 6 Typen vor. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Tausson, W. O., Die Umwandlung der Energie durch Mikroorganismen. VII. Über die Reduktion der Karboxylgruppe durch heterotrophe Mikroben. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 4. 1938. S. 445—465.) [Russisch.]

Die Untersuchung bezweckte, den Koeffizienten der Energieverwertung beim Wachstum der heterotrophen Mikroorganismen aus verschiedenen zu einer und derselben Reihe gehörenden und den gleichen Strukturtyp aufweisenden organischen Säuren zu bestimmen und festzustellen, ob die heterotrophen Mikroorganismen die Karboxylgruppe zu reduzieren vermögen. Zur Untersuchung wurde Penicillium sp. Ad_1 und als Kohlenstoffquelle für dieses die Malon-, Bernstein-, Wein- und Schleimsäure benutzt. Festgestellt wurde, daß der Koeffizient der Energieverwertung um so geringer war, je höher das Molekulargewicht der Säuren lag. Der niedrige Koeffizient der Energieverwertung bei der Malonsäure wird wahrscheinlich durch die Eigenartigkeit der Struktur ihrer Kohlenstoffkette bedingt (das Vorhandensein von einer CH_2-Gruppe). Die heterotrophen Mikroorganismen sind nicht imstande, die Karboxylgruppe der organischen Säuren zu reduzieren. *M. Gordienko (Berlin).*

Gutgisser, A. H., O aerobowym rozkładzie celulozy pod wpływem czystej hodowli Cytobacter polonicum. [Über aerobe Zellulosezersetzung durch Cytobacter polonicum.] (Acta Soc. Bot. Pol. Bd. 13. 1937/38. p. 327—354.)

Die Zellulose wurde nach einer im Warschauer Institut ausgearbeiteten Methode mittels Antiformin bestimmt. In Reinkultur zersetzt das Bakterium höchstens 22—23% der zugegebenen Zellulose. Durch kein Züchtungsverfahren konnte das Bakterium gezwungen werden, die Zersetzung zu steigern. Als Nährboden wurde ein Agar mit K_2HPO_4, $MgSO_4$, NaCl, NH_4NO_3 gewählt, p_H = 7,4. Das 2—3 μ lange und 0,8 μ breite Stäbchen besitzt eine Schleimhülle. Die optimale Wachstumstemperatur liegt zwischen 26 und 28° C, bei 10—12° C ist der Beginn einer Zellulosezersetzung festzustellen, oberhalb 28° C sinkt der Zersetzungsgrad wieder. Es wird ein p_H-Bereich von 6,8—9 vertragen, der günstige Teil jedoch liegt innerhalb 7,2 und 8. Wurde das K_2HPO_4 durch $(NH_4)_2HPO_4$ ersetzt, so war die Wirkung die gleiche, $NaNO_3$ setzte die Tätigkeit etwas herab, ebenso wie bei Asparagin, Glykokoll, Pepton. Glukose, Fruktose, Saccharose, Laktose, Maltose, Stärke konnten zwar als C-Quelle für das Wachstum ausgenutzt werden, eine Zellulosezersetzung jedoch fand nicht statt. Umgekehrt wuchs Cytobacter polonicum auf Mannit, Glyzerin nicht, auf Dextrin nur vereinzelt, dagegen hemmten diese C-Verbindungen die Zellulosezersetzung nicht. Destillate alter Kulturen vermochten nicht, eine erhöhte Zersetzungstätigkeit anzuregen. Erst durch Symbiose mit zwei nicht näher bezeichneten Stäbchen konnten ca. 40% der gegebenen Zellulose zersetzt werden. Die Gegenwart eines Kokkus war ohne Wirkung. Die beste Zersetzung wurde erst in Rohkulturen erzielt — bis 52 %—, vielleicht ist diese Steigerung dem Einfluß der Begleitbakterien insofern zuzuschreiben, als diese die Stoffwechselprodukte von Cytobacter polonicum weiterverarbeiten und so einer Hemmung durch dessen eigene Produkte entgegenwirken. Zellulose wurde durch die Begleiter nicht angegriffen. *Skallau (Berlin).*

Balsamelli, F., Recherches sur la possibilité de synthèse du facteur C de la part du B. bulgaricus et du streptocoque lactique. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. T. 10. 1938. p. 145—149.)

Die Frage, ob Bakterien Vitamine synthetisieren können, ist noch wenig geklärt. Deshalb wurde untersucht, ob Skorbut bei Meerschweinchen durch zusätzliche Ernährung mit Milchsäurebakterien verhindert werden kann. Bac. bulgaricus und Streptococcus lactis, in Frischmilch kultiviert, und letzterer auch in sterilisierter Milch übten in Dosen von 20 ccm je Tier eine schwache antiskorbutische Wirkung aus. Deutlicher, wenn auch immer noch schwach ist diese Wirkung bei Verwendung von Bac. bulgaricus in sterilisierter Milch. Vitamin C wird also augenscheinlich von Str. lactis und noch besser von Bac. bulgaricus in Milchkulturen in geringen Mengen synthetisiert.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Rodenkirchen, J., Die Milchsäuregärung und ihre Erreger. (Forschungsdienst. Bd. 6. 1938. S. 183—200.)

Verf. gibt mit der vorliegenden Arbeit eine Übersicht über den Stand unserer heutigen Kenntnisse von den Milchsäurebakterien im engeren wie

weiteren Sinne unter gleichzeitiger Auswertung eigener Erfahrungen. Die Behandlung der Materie ist schwierig, da einerseits keine Einheitlichkeit hinsichtlich der Klassifizierung besteht — neben der Systematik von Lehmann-Neumann wird mit der Aufstellung von Orla-Jensen gearbeitet, während die Milchwirtschaft mit einem mehr praktisch ausgerichteten System arbeitet —, andererseits zwischen den einzelnen Gruppen zahlreiche Übergänge bestehen, deren physiologische Leistungen willkürlich abgeändert werden können. Zu den Milchsäurebakterien im engeren Sinne zählt Verf. Streptokokken und Langstäbchen, die in der Hauptsache aus Milchzucker Milchsäure machen, hiervon bilden die Betakokken und -bakterien (Orla-Jensen) insofern eine Ausnahme, als zu ihren physiologischen Leistungen Gasbildung und Entwicklung anderer Nebenprodukte, wie Essigsäure, gehört; bei längerer Kulturdauer jedoch verschwinden diese Unterschiede; morphologisch stimmen sie mit den Milchsäurebakterien überein. Die Streptokokken kommen am häufigsten vor, zu nennen sind Str. lactis, cremoris und Verwandte (Aromabildner), thermophilus. Von ihnen bestehen Verbindungen zu den Enterokokken und Pneumokokken, Str. agalactiae. Die Milchsäurelangstäbchen gliedert Verf. in Thermobakterien wie Th. helveticus, acidophilus, Jugurt, und Streptobakterien wie Str. casei, plantarum, Bact. cucumeris fermentati. Am anspruchsvollsten sind die Thermobakterien, es folgen die Streptobakterien, schließlich die Streptokokken. In der zweiten Gruppe sind vertreten die milchsäurebildenden Corynebakterien (Mikrobakterien Orla-Jensens), Milchsäuremikrokokken (Reifungserreger im Käse) und die Darmmilchsäurebakterien, die, im Gegensatz zu allen genannten Arten, gramnegativ sind. Von den Grundtypen Coli und Aerogenes kann das Bact. lact. aerog. in der Käserei durch seine Gasbildung sehr schädlich werden. Beide Typen sind gut durch 4 Reaktionen voneinander zu unterscheiden: Während bei Coli die Indol- und Methylrotprobe positiv, die Voges-Proskauer- und Citratagarprobe dagegen negativ ausfallen, verlaufen die Reaktionen bei Gegenwart von Aerogenes gegensinnig. Die vielen Einzelheiten der in Frage kommenden Arten müssen dem Original entnommen werden. *Skallau (Berlin).*

Baker, J. A., Light as a factor in the production of pigment by certain bacteria. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 625.)

Zwei in der üblichen Weise im Dunkeln gezüchtete säurefeste Bakterienstämme, die völlig farblos wuchsen, bekamen die Fähigkeit zur Farbstoffbildung, wenn sie kurze Zeit mit ultraviolettem oder Sonnenlicht oder etwas länger mit elektrischem Lampenlicht bestrahlt und dann im Dunkeln kultiviert wurden. Die Wirkung des Lichts kann nicht auf einer rein chemischen Beeinflussung irgendwelcher von den Bakterien gebildeten Substanzen beruhen, sondern muß sich auf die Lebensvorgänge selbst erstrecken. Das wird durch folgende Feststellungen bewiesen: Erstens entsteht nach Bestrahlung ungefärbter, abgetöteter Kulturen kein Farbstoff, zweitens färben sich Kulturen nach Bestrahlung nicht, wenn sie bei $+ 4^{0}$ C gehalten werden, und drittens färben sich Alkoholextrakte ungefärbter Kulturen bei Bestrahlung nicht, obwohl der Farbstoff selbst alkohollöslich ist. Diese letztere Beweisführung erscheint allerdings nicht stichhaltig. Bei der Untersuchung weiterer 185 säurefester Bakterienstämme stellte sich heraus, daß 24 derselben ebenfalls Farbstoff bilden, wenn sie belichtet werden. Es han-

delt sich also offenbar bei diesem Einfluß des Lichts um eine verbreitete Erscheinung. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Sharp, D. G., A quantitative method of determining the lethal effect of ultraviolett light on bacteria, suspended in air. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 589—599.)

Zur Entkeimung der Luft in Operationssälen und bakteriologischen Arbeitsräumen wird vielfach die Verwendung von Ultraviolettlicht empfohlen. Um das Minimum an Lichtenergie ermitteln zu können, das zur Abtötung bestimmter Mikroorganismen notwendig ist, wurden bisher Plattenkulturen bestrahlt. Verf. beschreibt dagegen eine Methode, mit deren Hilfe es möglich ist, die Bakterien und anderen Mikroorganismen in Luft suspendiert der Bestrahlung auszusetzen und dann die Wirkung derselben zu bestimmen. Eine Bouillonkultur der Mikroorganismen wird in einem abgeschlossenen Raum in Luft zerstäubt und diese dann mit bestimmbarer Geschwindigkeit durch den bestrahlten Raum und danach durch sterile Bouillon geleitet, die anschließend auf ihren Mikrobengehalt untersucht wird. Als Bestrahlungsenergie wird das Produkt aus Lichtintensität und Luftstromgeschwindigkeit angesehen. Als Minimaldosis dieser Energie zur Abtötung von Staphylococcus albus wurden 26,200 erg je Quadratzentimeter ermittelt. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Wilson, P. W., Respiratory enzyme systems in symbiotic nitrogen fixation. I. The „resting cell" technique as a method for study of bacterial metabolism. (Journ. Bact. Vol. 35. 1938. p. 601—623.)

Zum Zwecke einer weiteren Aufklärung der Stickstoffbindung durch die Knöllchenbakteriensymbiosen wurde versucht, die Atmung der Knöllchenbakterien möglichst unabhängig von Assimilation und Wachstum zu untersuchen. Dieses Ziel wurde sehr gut erreicht durch Verwendung von Reinkulturen mit ruhenden, zur Zeit der Untersuchung sich nicht vermehrenden Zellen. Diese wurden in gepufferten Lösungen aufgeschwemmt, die je nach der Art der gestellten Frage verschieden zusammengesetzt waren. An solchen Zellaufschwemmungen, deren Dichte durch Wägen der Trockenmasse und Bestimmung des Stickstoffs in Rechnung gesetzt werden konnte, ließ sich dann feststellen, wie die Atmung durch die Phosphatkonzentration, die Reaktion, Temperatur, Substratkonzentration und Art des Substrats oder der Energiequelle beeinflußt wird. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Carbone, D., A propos de „Thiobacillus thiooxydans" Waks. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 10. 1938. p. 144.)

Es wird die Anreicherung, Isolierung und Identifizierung verschiedener Stämme von Thiobacillus thiooxydans aus einem Schwefel führenden Boden und aus einer saueren Moorerde beschrieben. Mit den Reinkulturen wurden in den verschiedenen Nährlösungen nach Waksman und Jensen p_H-Werte von 1 und darunter erreicht. Zur Zeit werden mit diesen Kulturen, gemischt mit Schwefel und Phosphorit, praktische Versuche durchgeführt. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Starmach, K., Powloki wodorotlenku zelaza na galazkach Chantransia chalybaea Fries. (Przyczynek do znajomosci bakteryj zelazistych z rodzajow: Sidero-

cystis i Siderocapsa.) [Eisenhydroxydablagerungen auf Chantransia chalybaea Fries.] (Acta Soc. Bot. Pol. Bd. 13. 1937/38. S. 127—148.)

Die Abscheidung von Eisenhydroxyd durch Bakterien auf Rhodophyzeen ist noch wenig untersucht worden. Die Speicherer Batrachospermum und Nemalion sind nach Naumann Eisenorganismen. Bei Chantransia chalybaea entstehen die Überzüge durch die Tätigkeit von Siderocystis confervarum (Chol.) Naum. und Siderocapsa maior Molisch. Die durch diese Bakterien erzeugten Ablagerungen haben verschiedenartiges Aussehen. Verf. gliedert daher die Absätze in 2 Typen: Der Siderocystis-Typ liefert Psichohormien, knollenartige Eisenhydroxyd-Ausscheidungen, die die Algenästchen muffenartig umwachsen. Die schwach elliptisch gebogenen Stäbchen sind 0,6—0,8 μ lang. Jugendliche Kolonien haben eine schwach gelbliche Gallerte, die die Bakterien umhüllt. Die Farbe wechselt: jugendliche Kolonien helloliv-braun bis gelbbraun, ältere dunkel-olivbraun, rostbraun bis rostrot. Die Bakterienzelle selber besitzt eine dunkle Membran. Der 2. Typ der Ablagerungen wird durch Siderocapsa geliefert: Die Kolonien sind kugelig, sie färben sich gut mit Jodjodkali, Gentianafuchsin, Methylenblau usw. Das Eisenhydroxyd wird nur in den Seitenteilen der Kolonien als Imprägnierung abgeschieden, jugendliche Vereinigungen zählen 6—8, alte bis 100 Bakterien. Die Kolonien erwecken, von der Seite gesehen, den Eindruck eines Vulkankegels, in dessen Krater die Bakterien eingebettet liegen. Die Ansiedlung neuer Kolonien erfolgt am Rande der alten, die Eisenhydroxyd-Ausscheidung wird auch an dieser Stelle begünstigt. *Skallau (Berlin).*

Tschistjakow, F. M. und Botscharowa, Z. Z., Die Wirkung niedriger Temperatur auf Mikroorganismen. II. Die Wirkung niedriger Temperatur auf die Entwicklung der Schimmelpilze. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 4. 1938. S. 498—524.) [Russisch.]

Das Temperaturminimum für das Wachstum der Pilze liegt bedeutend unter 0°. Niedrige Temperaturen hemmen bei Schimmelpilzen das Wachstum, die Konidien- und Sporenbildung, jedoch äußert sich diese Wirkung bei verschiedenen Arten, ja sogar bei verschiedenen Stämmen ziemlich verschieden. Am resistentesten gegen die niedrige Temperatur erwiesen sich Penicillium glaucum (isoliert aus Gefrieräpfeln in Zuckersirup, aus der Butter usw.), Mucor sp. (aus Gefriererdbeeren), verschiedene Stämme von Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Chaetostylium Fresenii (isoliert aus dem Hausenfleisch), Pilzkomplexe (Thamnidium elegans u. a.), welche aus Rind- und Hammelfleisch isoliert wurden usw. Bei einer Temperatur von — 8° konnte man in Rind-, Hammel- und Hausenfleisch im Laufe von 19 Monaten nur stellenweise Schimmelpilze finden. Auf den Nährboden übertragen, ergaben diese gar kein Wachstum. Bei Temperaturen von — 12° und — 18° wurde im Laufe von 19 Monaten überhaupt keine Pilzentwicklung beobachtet.

M. Gordienko (Berlin).

Tanner, Fr. W., and Hofer, J. W., Thermal death-time studies of Oospora lactis. (Food Res. Vol. 2. 1937. p. 505—513.)

224 Kulturen von Oospora lactis, von Sahneproben aus verschiedensten Gegenden der Erde isoliert, wurden in der Sahne verschiedenen Pasteurisationstemperaturen ausgesetzt. Keiner der Stämme hat 62,8° C nach 30 Min. Einwirkung überstanden, während einer diese Temperatur 20 Min. lang ohne Schaden ertragen hat. Von 144 Kulturen, die einer Temperatur von 57,2° C ausgesetzt worden waren, sind 8 am Leben geblieben. Pasteurisation bei 51,7° C tötete keinen der untersuchten Stämme.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Hatch, W. R., Conjugation and Zygote Germination in Allomyces arbuscula. (Ann. Bot. N. S. Vol. 2. 1938. p. 583—614.)

Dieser Saprophyt ist als einziges Beispiel einer heterogamen Planogameten-Konjugation bei Pilzen interessant, zudem dauert die Gesamtheit der Sexualvorgänge etwa 4 Std. und kann bei starker Vergrößerung noch mikroskopisch verfolgt werden. Im Anschluß an voraufgegangene Untersuchungen (1935) sind jetzt Konjugation und Zygotenkeimung eingehend beobachtet und beschrieben worden. Die Gameten sind kugelige, eingeißelige, einkernige Gebilde; die weiblichen 11 μ lang und 3,6 μ breit, grau, die männlichen orange, 8 μ lang und 2,3 μ breit. Der Kern liegt immer nahe der Membran. Lipoidkörnchen sind die Farbstoffträger. Nach 15 min. Lebensdauer findet schnell die Konjugation statt, wobei der männliche Gamet sich durch amöboidartige Bewegungen um den weiblichen legt. Von den im Anschluß an die Kernverschmelzung erfolgenden Teilungen ist bemerkenswert, daß die Reduktionsteilung erst in der keimenden Zygote vor sich geht. Die Kernteilungsbilder zeigen denselben Verlauf, wie er von den höheren Pflanzen bekannt ist. *Skallau (Berlin).*

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Weinmann, W. und Stührk, A., Versuche zur Entkeimung von Süßmosten mittels ultravioletten Lichtes. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 183—189.)

Versuche mit dem Wasser-Sterilisationsgerät „Uster" (Hersteller: Quarzlampengesellschaft Hanau) ergaben selbst bei keimarmen Mosten und geringer Durchlaufgeschwindigkeit (25 l/Std.) keine vollständige Entkeimung. Die hohe Resistenz der in den Mosten enthaltenen oder ihnen zugesetzten Hefen und Schimmelpilze ist mindestens zu einem Teil an das Vorhandensein von Farbstoffen im Most gebunden. Vorbehandlung des Mostes mit aktiver Kohle (Präparat reinst von Merck) hellt den Most auf und läßt die Abtötungsprozente z. B. von 54% bei Hefepilzen und 48% bei Schimmelpilzen auf über 99% ansteigen. Nach den bis jetzt vorliegenden Beobachtungen scheint bei Hefepilzen durch eine UV-Bestrahlung die Gärtätigkeit stärker gehemmt zu werden als die Vermehrung. *W. Schwartz (Karlsruhe).*

Bothe, F., Säuerungsbakterien in Konserven. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 369—375.)

Vortrag. Säuerungsbakterien sind stark hitzebeständige Bakterien, die in Konserven unschädliche Säuerung ohne Gasbildung hervorrufen. Außer dem für Deutschland weniger wichtigen thermophilen Bac. stearothermophilus Donk (Optimum bei 45°) kommen 3 noch unbekannte mesophile Bakterienarten (Optimum bei 30°), die angeblich Formumwandlung zeigen, in Frage. Sie stammen aus dem Boden und sind in Kulturen schlecht züchtbar. *Reyer (Karlsruhe).*

Seiler, Fr. und Pharion, R., Untersuchungen über die Haltbarkeit von Äpfeln bei verschiedenen Lagerungsbedingungen. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 255—270.)

Lagerungsversuche mit den Apfelsorten: „Goldreinette Frhr. v. Berlepsch" und „Welschisner", und zwar Kaltlagerung bei + 3° C; Gaslagerung unter erhöhtem CO_2-Gehalt (5% CO_2, 2,5% O_2, 92,5% N_2 und 15% CO_2, 10% O_2, 75% N_2) bei Kühlhaus- und Kellertemperatur; Lagerung bei Kellertemperatur (8—12° C). Die Haltbarkeit war in jeder Beziehung am besten unter den Bedingungen der Gaskaltlagerung. Die Verluste durch Lager-

fäulen betrugen bei der Apfelsorte „Frhr. v. Berlepsch“ in den beiden Gasgemischen rund 37 bzw. 33% bei einer Lagerdauer von etwa 160 Tagen (Beginn der Lagerung erst am 15. 2. 35) gegenüber 67% bei Kaltlagerung und 97% bei Kellerlagerung in der gleichen Zeit.

W. Schwartz (Karlsruhe).

Havanto, V., Bacterial spoilage process in bread during storage. (Suomen Kemistilehti. B. Vol. 11. 1938. p. 4.)

Zu den Mikroroganismen, die an der bakteriellen Zersetzung von gelagertem Gerstenbrot beteiligt sind, gehören u. a. einige Varietäten von Bac. mesentericus, deren maximale Wachstumstemperatur von 54° C etwas höher als gewöhnlich liegt. Bei einigen anderen lag diese Temperaturgrenze sogar bei 62° C. Diese ähneln schon thermophilen Arten und auch jenen Stämmen von Bac. mesentericus, die Jancke in Milch gefunden hat. Die meisten der isolierten Arten verflüssigten Gelatine sehr schnell, und je stärker diese Eigenschaft ausgeprägt war, um so schneller wurde von der gleichen Kultur das Brot zersetzt. Die Zersetzungsgeschwindigkeit war außerdem um so größer, je mehr Eiweiß das verwendete Mehl enthielt. Der Vorgang der bakteriellen Brotzersetzung selbst wurde chemisch-analytisch verfolgt. Zur Vermeidung von Schäden wird vorgeschlagen, dem Teigwasser Salzsäure zuzusetzen, so daß der p_H-Wert des Brotes etwa 5,2 beträgt.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Metzner, H. und **Oeser, H.**, Über ein neues Verfahren zur Frischhaltung von Seefischen. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 280—293.)

Lücke, Fr., Zur Frischhaltung von Seefischen. (Ebenda. Bd. 1. 1938. S. 293—296.)

Beide Arbeiten behandeln die Haltbarkeit von Seefischen (Schellfisch, Rotbarsch, Kabeljau, Fischfilet) bei Kaltlagerung, verbunden mit einer Vorbehandlung mit Wasserstoffsuperoxyd-Lösungen.

Metzner und Oeser verwenden das Wasserstoffsuperoxyd-Präparat „Tysox“ (Hersteller: Dtsch. Gold- und Silberscheideanstalt u. Elektrochem. Werke München, A.-G.) und gelangen auf Grund subjektiver Merkmale des Frischezustandes und der Keimgehalte zu dem Resultat, daß durch eine 10 Min. lange Behandlung mit einer 0,3proz. H_2O_2-Lösung die Haltbarkeit um 3—6 Tage verlängert wird.

Dagegen weist Lücke nach, daß es sich bei der durch H_2O_2 bewirkten erheblichen Senkung der Keimgehalte im allgemeinen nur um eine Oberflächenwirkung handelt. Es gelingt, selbst Fischen, die als genußuntauglich beschlagnahmt waren, durch die H_2O_2-Behandlung wieder ein frisches Aussehen zu geben und den Zersetzungsgeruch zu beseitigen. Der Gehalt an flüchtigem, basischem Stickstoff geht infolge Auslaugung während des Bades ebenfalls zurück. Oberflächenkeimgehalt und Stickstoffwert steigen jedoch während der anschließenden Lagerung außerordentlich rasch wieder an. Der Keimgehalt in der unverletzten Muskulatur wird nach Lücke überhaupt nicht beeinflußt, während Metzner und Oeser eine Verzögerung der Bakterienvermehrung in der Nackenmuskulatur der vorbehandelten Fische finden.

Lücke hält das Verfahren für ungeeignet, weil es nur eine äußerliche „Schönung“ bewirkt und den Verbraucher über den tatsächlichen Frischezustand der Fische täuschen kann, während Metzner und Oeser das Verfahren als unbedenklich dem Fischhandel zur Anwendung empfehlen.

W. Schwartz (Karlsruhe).

Lücke, Fr., Dietrich, R. und Küchler, W., Die Nutzbarmachung gebrauchter Garmachebäder der Fischindustrie. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 381—385.)

Vortrag. Verff. beschreiben ein großtechnisch durchführbares Verfahren zur Wiedernutzbarmachung der bei der Herstellung von Kaltmarinaden benutzten Essig-Salzbäder. Mikrobiologisch interessiert hierbei, daß die Bäder, die vorher 300—85 000 Keime im Kubikzentimeter enthalten, durch 24stünd. Einwirkung von 1% Wasserstoffsuperoxyd, welches gleichzeitig zur Eiweißfällung dient, völlig keimfrei gemacht werden. *Reyer (Karlsruhe).*

Schanderl, H., Die Nutzbarmachung des oxydativen Stadiums der Hefe bei der Trauben- und Beerenweinbereitung sowie in der Brennereipraxis. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 456—469.)

Unter oxydativem Stadium versteht Verf. die bei Gegenwart von Sauerstoff stattfindende Verwertung des Alkohols; als Endprodukte entstehen Fetteinschlüsse in den Hefezellen. Während in Deutschland bei der Weinbereitung dieses Hefestadium nicht benutzt wird (Gärung unter Luftabschluß), tritt es bei Südweinen häufig ein, bei der Sherrybereitung z. B. muß es eintreten. Es wird festgestellt, daß durch das oxydative Stadium (Kahmhautbildung) ein Abbau von Alkohol und besonders von flüchtigen Säuren, Essigsäure und durch Bildung nicht-flüchtiger Ester eine Aromatisierung des Weines erzielt wird. Verf. hat auf Grund seiner Untersuchungen zwei Verfahren, das Deckenverfahren und das Überhefeverfahren, ausgearbeitet, die gestatten, eine Aromatisierung von Wein und Weintypen mit Südweincharakter aus deutschen Weinen zu erzielen. Verf. wendet sich gegen den auch in Fachkreisen verbreiteten Irrtum, daß man allein durch Wahl von entsprechenden Heferassen aus jedem beliebigen Ausgangsmaterial Weine bestimmter Geschmacksrichtung, z. B. Mosel-, Rhein-, Tokaieraroma, erzeugen kann.

Reyer (Karlsruhe).

Runnström, I., Atmung, Gärung und Synthese bei Bäckerhefe. Permeabilität und Stoffwechsel bei Hefe. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 654.)

Fluorid hemmt die Glykolyse der Hefe unter anaeroben Bedingungen stärker als unter aeroben. Trockenhefe zeigt sehr hohe Permeabilitätswerte. Unter aeroben Bedingungen und bei Anwesenheit von Zucker werden bald normale Permeabilitätsverhältnisse hergestellt. Durch Anlagerung des Zuckers an der Oberfläche wird eine Abdichtung der Zellgrenzschichten bewirkt, so daß Fluorid nur sehr schwer in die Zelle eindringen kann. Unter anaeroben Verhältnissen wird der Zucker wesentlich lockerer an die Oberfläche der Zelle gebunden; mit zunehmendem Zuckerverbrauch steigt die Durchlässigkeit der Zellmembranen so weit, daß Fluorid durchdringen kann. Auf diese Art ist die starke Hemmung der Glykolyse durch Fluorid unter anaeroben Bedingungen zu erklären. Das Eindringen von Glykose in die Zelle geht nur sehr langsam vor sich und bestimmt als langsamster Teilprozeß die Geschwindigkeit der Glykolyse, die im Innern der Zelle sehr schnell verläuft. Substanzen, von denen die Permeabilität der Zelle verändert wird, wirken auch auf die Geschwindigkeit der Glykolyse und können damit eine spezifische Wirkung auf die glykolytischen Fermente vortäuschen.

Heuß (Berlin).

van Beynum, J., en Pette, J. W., Bewaring van melk en room onder zuurstofdruk. (Versl. van Landb. Kund. Onderzoek. Nr. 44 (9) C. 1938. p. 421—476.)

Die Untersuchungen befaßten sich mit dem sog. Hofius-Verfahren und seiner Einwirkung auf Bakteriengehalt und Haltbarkeit der Milch. Beim Aufbewahren von Rohmilch unter Sauerstoffdruck bei Temperaturen von 10° C und darunter während 2 Monaten konnten 2 Perioden beobachtet werden. Die 1. Periode, die ungefähr 12 Tage dauert, ist begleitet von einer Abnahme der Bakterienkeimzahl. Sie dauert länger, wenn der Sauerstoffdruck größer und die Temperatur geringer ist. Die 2. Periode ist durch eine Keimzahlvermehrung charakterisiert insofern, als sich allmählich ein Diplococcus entwickelt, der gegenüber hohem Sauerstoffdruck resistent ist, aber nur sehr langsam Milchsäure bildet. Diese Diplokokken vermehren sich etwa bis zu 500 000 pro Kubikzentimeter. Ist die maximale Zahl erreicht, tritt wieder ein kleiner Rückgang in der Keimzahl ein. In manchen Fällen beobachteten Verff. bei sehr hohem Druck und tiefen Temperaturen auch gar keine Bakterienentwicklung während der 2. Periode. — Geschmack und Geruch der 2 Monate lang nach dem Hofius-Verfahren aufbewahrten Milch wurden leicht anormal gefunden, der Rahm hatte leicht öligen Geschmack. In den Fällen, wo überhaupt kein Bakterienwachstum beobachtet wurde, waren diese Fehler ausgesprochener. Im großen ganzen aber war der Unterschied im Vergleich zu normaler Milch nur gering. Die Versuche mit pasteurisierter Milch haben noch zu keinem abschließenden Ergebnis geführt. Betreffs pasteurisiertem und rohem Rahm ist folgendes wichtig: In beiden Fällen wurde nach zweimonatiger Aufbewahrung bei 4—5° C unter 11 Atm. Sauerstoffdruck kein Bakterienwachstum beobachtet. Das Aroma und die Haltbarkeit der aus so behandeltem Rohrahm hergestellten Butter war nicht erfreulich, während im Gegensatz hierzu die aus pasteurisiertem Rahm hergestellte Butter eher als gut zu bezeichnen war, insbesondere die Süßrahmbutter. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Farrell, M. A., A comparison of ten presumptive test media used in the detection of the Escherichia-Aerobacter group in milk. (Journ. of Dairy Sci. Vol. 20. 1937. p. 67—75.)

Es fand an Hand von 66 Rohmilchproben eine vergleichende Untersuchung von 10 verschiedenen Medien zum Coli-aerogenes-Nachweis statt. Die Milchen wurden in abfallender Konzentration (1,0—0,01 cm) mit 5 Parallelröhren einer jeden Verdünnung in die verschiedenen Medien verimpft und nach 48 Std. bei 37° auf Gasbildung geprüft. Die jeweils positiv ausgefallene höchste Verdünnung wurde genauer nach den bestehenden Vorschriften analysiert und die wahrscheinliche Keimzahl wurde an Hand der McCradyschen Tabellen festgestellt. Hierbei ergaben sich bei einigen der angewandten Nährflüssigkeiten sehr ungenaue und schwankende Resultate. Im übrigen erwiesen sich die Brillantgrünlaktosegallebouillon, die Fuchsinlaktosebouillon und die Methylenblau-Bromkresolpurpurbouillon in gleicher Weise wirksam bei Nachweis der Coli-aerogenes-Gruppe. Sie ließen 5,9, 5,3 bzw. 4,6 Keime pro Kubikzentimeter erscheinen, während mit den übrigen Nährmedien nur ein Durchschnitt von weniger als 4 Keimen pro Kubikzentimeter

festzustellen war. Betreffs Häufigkeit des Auftretens der verschiedenen Typen ergaben sich folgende Prozentsätze: Escherichia 53%, Aerobacter 40%, Zwischenformen 7%. Aber auch die erwähnten besten Medien waren keine idealen Nährflüssigkeiten für den vorläufigen Nachweis von Coli-aerogenes-Bakterien in Milch; denn die beobachtete Gasbildung konnte nur zu 80% als auf diese Gruppe zurückgehend bestätigt werden. Somit wäre es ein dringendes Bedürfnis, ein zuverlässigeres Nährmedium für den Coli-aerogenes-Nachweis in Milch auszuarbeiten und praktisch nachzuprüfen. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Grimmer, W., Über die Verkäsung von Gärfuttermilch. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 88—93.)

Vortrag. Verf. berichtet über die bisherigen Ergebnisse seiner Untersuchungen über die Verkäsung von Milch, die von mit Gärfutter (Klee- und Lupinensilage) gefütterten Kühen stammte. Trotzdem die chemische Zusammensetzung der Milch ganz normal war, zeigte sich, daß die Käse aus minderwertiger Silage minderwertig, aus guter Silage nicht sehr gut waren. Dies ist darauf zurückzuführen, daß die Flora in den Käsen abnorm war, sowie auch darauf, daß in Milch aus buttersäurehaltiger (schlechter) Silage die Entwicklung der für die Verkäsung wichtigen kräftigen Milchsäurebakterien gehemmt wird. Durch Pasteurisieren konnte keine Besserung der Verkäsung erreicht werden. *Reyer (Karlsruhe).*

Dorner, W. und Thöni, M., Untersuchung über stinkende Nachgärung oder Graufäule bei Greyerzer- und Emmentalerkäse. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. Jahrg. 51. Bern 1937. S. 431—446.)

Beim Greyerzer- und Emmentaler Käse sind Nachgärungen beobachtet worden, die durch ihre dabei erzeugten stinkenden Produkte die Ware vollkommen unbrauchbar machten und so zu großen Verlusten führten. Im Käse bilden sich entweder braunschwarze Punkte oder graue Verfärbungen. Diese Erscheinung tritt meist erst 4—5 Monate nach der Herstellung des Käses auf.

Der aus an „Graufäule" erkranktem Material isolierte Erreger wurde Bacterium proteolyticum n. sp. genannt. Durch die Einwirkung dieses Organismus erfährt das Käsesubstrat eine wesentliche Erhöhung des p_H-Werts, der wiederum die Tätigkeit der Propionsäurebakterien erhöhen dürfte. Da der Erreger hitzeempfindlich ist, würde durch Anwendung von Hitze ein Weg zur Bekämpfung der „stinkenden Nachgärung" oder „Graufäule" wahrscheinlich möglich sein. *Bärner (Berlin-Dahlem).*

Fink, H., Biologische Rohstoffsynthesen. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 52—58.)

In einem Vortrag behandelt Verf. die Synthese von Eiweiß durch Pilze und ihre technische Anwendung in der Erzeugung von Futterhefe. Im Modellversuch mit Torula utilis erhält man bei Belüftung z. B. aus 100 g Traubenzucker und Nährsalzen mit Ammoniak als N-Quelle 210 g Hefe (mit 25% Trockensubstanz, die zu 59,4% aus Eiweiß besteht), ferner 53,5 g CO_2 und nur 0,02 Äthylalkohol. Die Energieausbeute beträgt 63—67% gegenüber 86—93% bei der alkoholischen Gärung des Traubenzuckers. Auch bei der Eiweißbildung aus Kohlenhydraten und niedermolekularen N-Verbin-

dungen wie Harnstoff, Ammoniumlaktat im Tierkörper dürfte die Kalorienausnutzung nach Ansicht des Verf.s nicht sehr günstig sein.

W. Schwartz (Karlsruhe).

Fink, H., Biologische Rohstoffsynthesen. Die technischen Anwendungen der biologischen Eiweißsynthese und ihre nationalwirtschaftliche Bedeutung. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 107—122.)

Vortrag (2. Teil; 1. Teil s. vorstehendes Ref.). Es werden einige Möglichkeiten zur großtechnischen Erzeugung von Eiweißfuttermitteln nach dem Eiweiß-Syntheseverfahren des Verf.s aufgezeigt, und zwar aus Holzzucker, Sulfitablauge, durch Umstellung der Brennereien (Eiweiß-Schlempeverfahren) und aus einfacher gebauten Kohlenstoffverbindungen wie Azetaldehyd, Alkohol, Essigsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Glyzerin u. a., die synthetisch hergestellt werden können bzw. als bisher unverwertbare Nebenprodukte vorhanden sind. Hinderlich ist bisher vor allem der Herstellungspreis, der erheblich über dem der eingeführten pflanzlichen Eiweißfuttermittel liegt.

Reyer (Karlsruhe).

Politi, I., Ricerche sui foraggi insilati. [Untersuchungen über eingesäuertes Futter.] (Annali Sperimentaz. Agr. Bd. 29. 1938. S. 75—112.)

1. Mitt.: Aus dem Innern der Futtermasse wurden Stichproben entnommen (10 g insgesamt), diesen wurden 100—200 ccm sterilisierten Wassers zugegeben, und, nach weiteren Verdünnungen, Kulturen mit der Mikrobensuspension hergestellt. Die Versuche wurden auf Heu und auf Grünfutter mit 30—50% Wassergehalt (nach dem Cremerschen Einsäuerungssystem) durchgeführt. Aus den Resultaten, welche in Tabellen zusammenfassend dargestellt sind, zieht Verf. nachstehende Folgerungen: Heu und Grünfutter unterscheiden sich vom bakteriologischen Standpunkt aus nicht wesentlich voneinander: in beiden schwankt nämlich der Mikrobengehalt zwischen einigen tausenden und mehreren hunderttausenden Mikroben pro Gramm; die Zahl der gasbildenden Mikrobensporen zwischen 10 und 100 pro Gramm. Die Mikroben, die einen Einfluß auf die Milch ausüben, sind vorwiegend peptonisierende Bakterien. Das Sauerwerden des Futters hängt mehr von den enzymatischen Prozessen der Pflanzenzellen als von den Bakterien ab. Bei der Cremerschen Ensilage-Methode sind die Verluste an Nährstoffen sehr gering. Keinen Nachteil übt das Grünfutter auf das Vieh oder auf die Milch aus. Wenn aber der Wassergehalt über 55% steigt, treten andere Prozesse (Buttersäurebildung, Zersetzung von Zucker und Proteiden) ein, die den Wert des Futters beträchtlich herabsetzen.

2. Mitt.: Hier werden 4 Bakterienstämme beschrieben, von denen einer mit Lactobacillus pentoaceticus identisch ist, die anderen vielleicht als Varianten desselben zu betrachten sind.

3. Mitt.: Verf. hat Versuche mit Mikrosilos (einfache, hermetisch verschlossene Flaschen) hergestellt, um den Einfluß der Temperatur und der mechanischen Behandlungen des Futters festzustellen. Das Futter, unbehandelt, ausgepreßt oder zerrieben, wurde Temperaturen von 20—37° ausgesetzt. Es erwies sich, daß die mechanischen Behandlungen die Versäuerung des Futters steigern. Beim unbehandelten Futter verläuft die Versäuerung rascher bei 20—25° als bei 37°; auf das ausgepreßte Futter dagegen übt die Temperatur keinen großen Einfluß aus. Ganz umgekehrt verläuft die Zer-

setzung der Proteide, welche bei mechanisch behandeltem Futter und bei niedrigen Temperaturen (20—25°) stärker gehemmt wird. Aus den Versuchen geht auch die große Bedeutung der Bakterien für die Versäuerung des Futters hervor.

Pesante (Rom).

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Hwang, Y., Eine neue Methode zur Bestimmung des Keimgehalts der Böden mittels der Untersuchung der Leistungsfähigkeit ihrer Mikroorganismen. (Arch. f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 410—423.)

Die Methode beruht darauf, daß in einer auf p_H 5—5,5 eingestellten Nährlösung mit Bouillon infolge Ammoniakbildung bei erfolgter Mikroorganismenentwicklung eine Trübung auftritt (Ausfällung von Magnesium), an der nach dem Prinzip der Verdünnungsmethode die Grenze der Bakterienentwicklung erkannt werden kann. Auf diese Weise wurde ein etwa 7,5mal so hoher Bakteriengehalt in Böden gefunden wie mit der Plattenmethode.

Rippel (Göttingen).

Beger, H., I. Die Biologie der Eisenbakterien. (Die Eisenfällung.) — II. Die Eisenbakterien in den Wasserversorgungsanlagen und ihre praktische Bedeutung. — III. Die Biologie der Manganfällung durch Eisenbakterien. — IV. Maßnahmen gegen das Auftreten von Eisenbakterien im Wasserwerksbetrieb [Sonderdruck aus: „GWF, Das Gas- und Wasserfach". Bd. 80 (1937). Heft 43, Heft 50; Bd. 81 (1938). Heft 3, Heft 6, 18 S.]

Der Wasserfachmann besitzt über die Erreger der ihm an sich wohlbekannten „Eisenkalamitäten" oft nur eine recht undeutliche Vorstellung. Es galt dem Verf. daher zunächst, über die Natur der Eisen- und Manganfäller Klarheit zu schaffen. Am wichtigsten sind hier die Bakterien, während Pilze und Algen nur untergeordnete Bedeutung haben.

Von besonderem Wert in den theoretischen Abschnitten ist die neu durchgeführte Berechnung des chemisch energetischen Verlaufes der Eisen- und Manganoxydation, wobei sich die bisher — für Fe — benutzten Lieskeschen Werte als wesentlich zu niedrig erwiesen. Der Unterschied zwischen der bakteriellen Enteisenung und Entmanganung besteht vor allem darin, daß der Kaloriengewinn bei der Fe-Oxydation etwa dreimal höher ist, als bei der Mn-Oxydation. Hieraus erklärt sich einwandfrei die schon bekannte Tatsache, daß die Mn-Organismen ausgesprochen eutrophe Gewässer bevorzugen. Beger stellt überhaupt das Problem „Mangan" — in Erweiterung der einschlägigen Literatur — stark in den Vordergrund.

Während der chemische Verlauf der Fe-Oxydation bikarbonatgebundenen Eisens im wesentlichen bekannt war, veröffentlicht der Verf. hier auch eine Theorie organisch (vorwiegend an Humate) gebundenen Eisens, in der der Begriff „Eisenorganismus" allerdings eingeengt benutzt wird. Da außerdem anzunehmen ist, daß sich das Eisen auch in den Humatgewässern mindestens teilweise in Bikarbonatform vorfindet, besitzen wir jetzt für alle Gewässertypen verwendbare Arbeitshypothesen.

Weitere allgemein wichtige physiologisch-ökologische Beiträge sind in dem „Biologischen Eisen-Mangan-Spektrum" sowie in den zahlreichen p_H-Angaben aus Kultur und Feldversuch zu finden. In dem Spektrum sind eine Anzahl besser bekannter Eisenorganismen nach ihrer Fähigkeit, vorwiegend Fe bzw. Mn zu speichern, geordnet, die gleichzeitig dem $KMnO_4$-Verbrauch ihrer Standorte entspricht.

Die meist gut ausgeprägte und bekannte ökologische Einheit „Wasserwerk" zeigt auch im Hinblick auf die Eisenbakterien ein klares Bild. Wieviel aber auch hier für einen aufmerksamen Beobachter noch zu finden ist, beweist die Tatsache, daß Beger im Jahre 1935 und in dieser Arbeit je eine neue Spezies aufstellen konnte.

Mehr für den Praktiker gedacht ist vor allem die Zusammenstellung der in Wasserwerken vertretenen Arten, ihre praktische Bedeutung und die Bekämpfungsmöglichkeiten, während die methodischen Angaben über Kulturversuche und die Gewinnung

bestimmter Bakterien wieder von allgemeinem Wert sind. Zahlreiche (z. T. Original-) Abbildungen, die allerdings technisch vollkommener sein könnten, tragen zur Anschaulichkeit wesentlich bei. *P. Dorff (Babelsberg).*

Issatschenko, B. L., Die Übersicht der Arbeiten über die Mikrobiologie des Heilschlammes und der Mineralquellen in UdSSR. 1917—1937. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 4. 1938. S. 385—410.) [Russisch.]

I. Die Untersuchungen des Kreislaufes vom Schwefel: Es wurde in sämtlichen Gewässern mit Heilschlamm (Limane, Seen in der Krim, in Mittelrußland, Westsibirien usw.) die biogene Reduktion der Sulfate festgestellt. Die reduzierenden Mikroorganismen befinden sich meist (oder ausschließlich) im Schlamm. Bei der H_2S-Bildung spielen Bakterien die größte Rolle im Anfangsstadium der Schlammbildung, im späteren aber, mit der Erhöhung der Konzentration und mit dem Auftreten anaerober Bedingungen, überwiegt die Rolle der Mikrospora. Die letztere wird in allen Salzlakeproben gefunden (Swetschnikowa). Die Entwicklung der Schwefelbakterien scheint von der chemischen Zusammensetzung sowie von der Konzentration der Salzlake nur wenig abhängig zu sein: man konnte normale Formen von diesen in chlorid-, sulfat- und sodahaltigen Wässern bei geringer und hoher Konzentration (26—28° B.) feststellen. Von Purpurbakterien sind manche Arten zweifellos aerob (Issatschenko). In Limanen um Odessa, sowie in manchen Seen wurden nebst Purpurbakterien Chlorobium limicola mit charakteristischem grünen Pigment, sodann Chirochromatium aggregatium Lauterb. u. a. isoliert. In manchen Seen war am stärksten Chromatium vertreten, während Thiospirillum vollkommen fehlte, in anderen war dagegen das Umgekehrte der Fall. Thiobacterium (Thiobacillus) thioparus f. Tambi Iss. verträgt eine Konzentration der Salzlake von 22° B. gut, die Oxydationsfähigkeit mancher ihrer Stämme erreicht auf dem Nährboden mit 5% NaCl im Durchschnitt 105 mg Sulfate/100 ccm Nährsubstrat im Laufe von 2 Wochen. In einer Reihe von Seen wurden neue morphologisch unterschiedliche Formen von Thiobact. Beijerinckii und Thiobact. Nathansonii isoliert. Das erstere besitzt die Fähigkeit, bei der Oxydation des Hyposulfits Schwefel auszuscheiden (Lange-Pozdejewa). Thionosauere Bakterien findet man meistens in schwarzem Schlamm der Limane, auch im Sand (Rubentschick).

II. Der Stickstoffkreislauf: Aus dem Heilschlamm wurden isoliert Azotobakter, Clostridium pasteurianum Nitrosomonas, Fäulnisbakterien u. a. Arten. Der Nitrifikationsprozeß geht noch bei einem NaCl-Gehalt von 15% vor sich („Meeresherkunft der Nitrifikatoren"). Fäulnisbakterien kommen meist in schwarzem und grau-schwarzem Schlamm vor, Nitrosomonas überwiegt meist im Grundsand. Aus dem jungen Schlamm wurden die die Eiweißstoffe zersetzenden Aktinomyzeten (Act. machagiensis, aquatilis u. a.) isoliert (Salimowskaja). Aus dem Schlamm der Limane wurden die den Harnstoff zersetzenden Bakterien Urob. psychrocartericus, Urob. hesmogenes, Urob. amylovorum u. a. isoliert, die sich bei sehr hohem Salzgehalt entwickeln können. Der Harnstoff dient als N-, nicht aber als C-Quelle (Rubentschik).

III. Der Kreislauf des Kohlenstoffs: Es wurden zwei Formen aerober, aus der Zellulose lösliche Kohlehydrate bildender Mikroorganismen, und eine Form eines anaeroben Stäbchens, welches dem Bac. fermentationis methanicus nahesteht, isoliert und beschrieben. Rubentschick stellte im Schlamm der Limane Cytophaga (C. halophila) fest. Auch wurden einige zellulosezersetzende Aktinomyzetenarten (Act. melanogenes, Act. melanoroseus u. a.) isoliert. Die aerobe Zersetzung der Zellulose geht nur in der dem Ufer nahen Zone und in geringerer Tiefe vor sich (0,25—0,50 m tief), in tieferen Schlammschichten verläuft nur die anaerobe Zersetzung. — Fette werden im Schlamm unter Beteiligung der Aktinomyzeten (Act. aquatilis u. a.) zersetzt. Von Eisenbakterien wurden aus Limanen Gallionella, aus Mineralwässern Gallionella, L. thrichogenes, L. ochracea und Sideromonas confervarum isoliert (Issatschenko, Perfl'jew, Cholodny, Preobraschenskaja u. a.). Von Hefen wurden einige Saccharomycesarten isoliert. — Hohe Salzkonzentration in Limanen und Seen verhindern die Entwicklung der meisten Bakterienarten nicht, dies kommt nur bei ungewöhnlich hoher Konzentration vor (von über 480 g/1 l). In Schlammproben aus den Limanen, die in einer Kohlensäure-

und Wasserstoffatmosphäre 33 Jahre lang aufbewahrt waren, waren Bakterien noch immer lebenstätig. In Seen mit hohem Sodagehalt überwiegen blaugrüne Algen. Die Rosafärbung der Salzlake wird durch Dunaliella salina hervorgerufen, kann aber auch durch Purpurbakterien u. a. bedingt werden. — Torfschlamm zeichnet sich durch besonders große Bakterienmengen aus (bis 2 Milliarden/1 g Trockenschlamm); aus diesem wurden fast alle im Boden vorkommenden Arten isoliert. In sapropelartigem Schlamm mit sauerer Reaktion war die Bakterienzahl bedeutend geringer, auffallend groß aber war die der Pilze; auch erwiesen sich Bakterien in diesem wenig aktiv (Issatschenko, Strohbinder, Ssimakowa u. a.).

M. Gordienko (Berlin).

Remy, E., Über die Verwendung des Dichlorphenolindophenols als besonders feinen Indikator zum Nachweis der Fäulnisfähigkeit von Abwässern. (Arch. f. Hyg. u. Bakt. Bd. 119. 1938. S. 141—144.)

Dichlorphenolindophenol wird bei gleicher Konzentration leichter durch schwefelhaltige Verbindungen reduziert als Methylenblau, es ist deshalb zum Nachweis der Fäulnisfähigkeit von Wasser, insbesondere von Abwasser sehr gut geeignet. Von 15 mit Dichlorphenolindophenol positiv reagierenden Brunnenwässern ergaben 8 mit Methylenblau eine negative Reaktion. Die zur Verwendung gekommene Lösung war 0,001 normal. Sie wurde nach den Angaben von Winterstein und Schön in folgender Weise hergestellt:

0,270 g Dichlorphenolindophenol (chem. Fabrik Dr. Schuchardt-Görlitz) wurden in 600 ccm Wasser gelöst bei gleichzeitigem Zusatz von 10% m/15 primärer Kaliumphosphat- und 20% m/15 sekundärer Natriumphosphatlösung. Die Farblösung blieb 24 Std. unter öfterem Umschütteln stehen, wurde dann filtriert und bei 15° auf 1000 ccm aufgefüllt. Zu 49 ccm Untersuchungswasser wurde in dicht schließender 50-ccm-Glasstöpselflasche 1 ccm Farblösung gegeben (bei Verwendung von Methylenblau 0,5 ccm 0,05proz. Farblösung auf 49,5 ccm Wasser). Es ist darauf zu achten, daß keine Luftblasen auftreten. Bebrütung bei 37°, Beobachtungsdauer 72 Std.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Mikrobiologie von Holz usw.

Lohwag, K., Ganoderma resinaceum Boud., Erreger einer charakteristischen Fäule. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Bd. 64. 1938. S. 258—260.)

Ganoderma resinaceum Boud., der als gefährlicher Feind verschiedener Laubholzarten angesprochen wird, wurde in Wien an Eichen beobachtet. Die durch ihn verursachte Holzzersetzung ist sehr charakteristisch und tritt besonders deutlich in Erscheinung, wenn das mürbe Holz und die meist dichten Hyphengeflechte durch Einwirkungen der Umwelt völlig zerstört worden sind, so daß die breiten Markstrahlen allein übrig bleiben und isoliert hervortreten. Die Holzzersetzung sowie die Fruchtkörper werden eingehend beschrieben. *H. Richter (Berlin-Dahlem).*

Hopp, H., The formation of colored zones by wood-destroying fungi in culture. (Phytopath. Vol. 28. 1938. p. 601—620; 5 figs.)

Verf. suchte die Ursache der Färbung von Zonen bei der Kultur folgender Pilze zu ermitteln: Fomes applanatus, F. fomentarius, F. fraxinophilus, Polyporus hispidus und F. ignarius. Diese verursachen eine Holzfäule bei Populus canadensis var. eugenie. Die Färbung ist abhängig von der physikalischen Struktur des Nährbodens und der relativen Luftfeuchtigkeit.

Winkelmann (Münster i. W.).

Rohmeder, E., Versuch mit einem Schutzmittel gegen Buchenstocken. (Forstwissenschaftl. Centralbl. Bd. 60. 1938. S. 329—332.)

Es wurde die Wirkung des Anstrichmittels „Marktredwitz" gegen das Verstocken (Verfärbung und Zersetzung des Holzes durch Pilze) gefällter Buchenstämme geprüft. Die Versuchsstämme wurden teils am 20. Februar, teils am 6. Mai geschlagen und einheitlich zweimal (am 6. und 13. Mai) mit dem Mittel behandelt. Der Anstrich erfolgte an den Schnittflächen, den Astansätzen, dem entrindeten Ring der Meßstelle und etwa vorhandenen Rindenrissen. Die Stämme blieben 1 Jahr im Walde liegen. Es zeigte sich, daß die Schutzwirkung des Mittels gut war, wenn es unmittelbar nach der Fällung angewandt wurde (Ausbeute an gesundem Nutzholz 92%). Die unbehandelten und die erst 10 Wochen nach der Fällung behandelten Stämme ergaben nur 61 bzw. 65% gesundes Holz. *H. Richter (Berlin-Dahlem).*

Schulze, B., Theden, G. und Vaupel, O., Röntgen-Interferenzuntersuchungen einheimischer Holzarten im gesunden Zustand und nach Pilzangriff. (Holz als Roh- und Werkstoff. Bd. 1. 1938. S. 75—80.)

Es gelangten verschiedene Laub- und Nadelhölzer zur Untersuchung. Der Pilzangriff wurde künstlich, in Kolle-Schalen (Klötzchen-Methode) erzeugt, und zwar zunächst nur an Fichte und Kiefer mit Coniophora cerebella, Poria vaporaria, Merulius lacrimans domesticus und Trametes pini. Die Röntgendiagramme wurden mittels Quer-, Radial- und Tangentialschnitten von 80 μ Dicke erhalten, wobei Tangentialschnitte bevorzugt wurden. Da einesteils die Röntgendiagramme des Holzes durchweg Zellulosediagramme sind, anderenteils die holzzerstörenden Pilze überwiegend Zellulose abbauen, bestand Aussicht, diesen Vorgang auch röntgenographisch verfolgen zu können. Es zeigte sich, daß der Befall durch Coniophora, Poria und Merulius eine zunehmende Schwächung der Interferenzen zur Folge hatte, die bei Poria auf Fichte bereits nach 6 Monaten zum völligen Verschwinden des Zellulosediagramms führte. Offenbar bauen diese Pilze lediglich die Zellulose ab, ohne die Ordnung des myzellaren Aufbaues als solche zu zerstören. Bei Trametes pini dagegen konnte auch nach 6monatigem Angriff noch keine Änderung des Röntgendiagramms festgestellt werden, da dieser Pilz zunächst das keine Röntgen-Interferenzen liefernde Lignin abbaut. Reines Merulius-Strangmyzel lieferte die für tierisches und pflanzliches Chitin typischen Interferenzen, die jedoch auf den Aufnahmen der verpilzten Holzproben nicht sichtbar wurden, weil die darin vorhandenen Myzelmengen zu gering sind. Hinsichtlich der genauen Versuchsanordnung und der Beschreibung der Diagramme muß auf das Original verwiesen werden.

H. Richter (Berlin-Dahlem).

Kalinenko, W. O., Über die Rolle der Schimmelpilze, Aktinomyceten und Bakterien bei der Zerstörung des Kautschuks. (Mikrobiologie. Bd. 7. Folge 1. 1938. S. 119—128.) [Russisch.]

Asp. oryzae und Penicillium sp. zerstörten im Laufe von einem Monat (in Kolben) ca. 32% vom dispersen Kautschuk; Act. aurantiacus vermochte im Laufe derselben Zeit nur 20%, Act. longisporus ruber dagegen über 40% zu zerstören. Az. chroococcum,

B. mycoides, B. fluorescens, Sarcina ureae und Proteus vulgaris sind unfähig, Kohlenwasserstoff des Kautschuks zu assimilieren. *M. Gordienko (Berlin).*

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Stellwaag, F., Toxikologische Probleme in der Schädlingsbekämpfung. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 51. 1938. S. 589—594.)

Verf. zeigt an Beispielen, auf welchem Stand die Toxikologie der niederen Organismen sich befindet. Die Bedeutung des Grenzwertes der Vergiftung und die rechnerische Auswertung von Versuchsergebnissen werden erörtert und das Problem der Ersatzstoffe wird besprochen.

Die Toxikologie niederer Organismen hat vor allem das Ziel, zu praktischen Erfolgen zu gelangen. Im Gegensatz zu den Methoden sind weder ihre Auswertung noch die grundsätzlichen Begriffe in befriedigender Weise ausgearbeitet. Es gibt noch keine Lehre von den Giften im Sinne der Pharmakologie und es fehlen größtenteils Untersuchungen zur Aufklärung der Reaktionen. Man ist noch kaum darüber unterrichtet, welche Wege die Gifte nehmen, welche Organe dem Angriff unterliegen und was durch den Giftstoff überhaupt bewirkt wird. Der unbefriedigende Stand der Toxikologie entspricht also keineswegs den heute zu stellenden Anforderungen und erfordert eine bessere Zusammenarbeit zwischen dem Chemiker und dem Biologen. Ersatzstoffe können nur dann Bedeutung gewinnen, wenn sie für die behandelte Pflanze unschädlich sind. Man sollte auch nicht lediglich nach Ersatzstoffen fahnden, sondern die Methoden der Bekämpfung der Schädlinge zweckmäßiger zu verändern suchen. Alte empirische Methoden müssen im Licht neuzeitlicher physiologischer Erkenntnisse überprüft werden. Auch ist zu versuchen, das Schwergewicht der chemischen Bekämpfung zeitlich zu verschieben, so daß die Schädlinge schon zu Beginn des Vegetationsjahres vorbeugend erfaßt und so dezimiert werden, daß die Anwendung gefährlicher Mittel weitgehend eingeschränkt werden kann. *Heuß (Berlin).*

Ssawtschenko, E. N., Die Berechnung der Konzentration der nicht-standardisierten Insektiziden. (Der Zucker. Nr. 2. 1938. S. 32—34.) [Russisch.]

Bei der Bekämpfung des Rübenrüsselkäfers erzielte man die besten Resultate mit 0,8proz. Natriumfluorid- bzw. mit 0,35proz. Parisergrün-Lösung; gegen die Raupen des Phlyctaenodes sticticalis L. genügte schon eine 0,5—0,7proz. NaF- bzw. 0,15—0,20proz. Parisergrün-Lösung vollkommen. Auf die Rübenpflanzen übten diese Konzentrationen keine schädliche Wirkung aus. Die nicht-standardisierten Präparate zeigen sehr bedeutende Schwankungen bezüglich des Giftgehaltes. Zur Berechnung der erforderlichen Menge von diesen bei der Herstellung der Lösungen werden vom Verf. spezielle Formeln vorgeschlagen. *M. Gordienko (Berlin).*

Böning, K., Die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge des Meerrettichs. (Nachr. üb. Schädlingsbekämpfung. Bd. 13. 1938. S. 62—87.)

Der Meerrettichanbau, dessen Gesamterzeugung sich in Deutschland auf jährlich ungefähr 6—7 Millionen RM. beläuft, wird durch eine Reihe pflanzlicher und tierischer Parasiten geschädigt. Unter den Pilzkrankheiten sind zu nennen: Weißrost (Albugo candida), der außer Blattbefall auch eine Kopffäule der Stangen verursacht, Schwärze (Verticillium armoraciae), einige Blattfleckenerreger und Sclerotinia sclerotiorum. Durch übermäßige Bodenfeuchtigkeit werden Bakteriosen begünstigt: Ringfäule, die als Kernfäule oder Rotbrüchigkeit auftritt, Naßfäule und Wurzelkropf. Außer diesen pflanzlichen Schädlingen erwähnt Verf.

eine Viruskrankheit, bei der sich auf den Blättern hellgrüne, ringförmige Flecke zeigen. Ferner werden eine ganze Reihe von Blattkäferarten, Erdflöhe, Kohlfliege und einige Raupen von Groß- und Kleinschmetterlingen besprochen. — Bei allen Krankheiten werden Verhütungs- bzw. Bekämpfungsmaßnahmen angegeben. Zur Erläuterung der einzelnen Schadbilder dienen zahlreiche Abbildungen. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Azevedo, N., Relação bibliographica referente a fungos e doenças do caféeiro. (Rodriguesia. Bd. 2, Sondernummer. 1937. S. 213—238.)

Die bibliographische Zusammenstellung über die Krankheiten und Schädlinge des Kaffees gliedert sich in zwei Teile. Im ersten Abschnitt werden in alphabetischer Reihenfolge 161 Krankheiten und Schädlinge aufgezählt und die wichtigsten Literaturhinweise gegeben, im zweiten Teil folgen, nach Autoren geordnet, weitere 217 Literaturzitate.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Benatar, R., Contribuição ao estudo bibliographico de doenças da roseira. (Rodriguesia. Bd. 2, Sondernummer. 1937. S. 239—264.)

Die Bibliographie hat die pilzparasitären, bakteriellen und Viruskrankheiten der Rose zum Gegenstand und behandelt fast 300 Erreger und die dazugehörige Literatur. Der zweite, nach Autoren geordnete Teil umfaßt weitere 168 Literaturangaben. *M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).*

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Benatar, R., Contribuição ao estudo e tratamento das mais communs doenças de roseiras. (Rodriguesia. Bd. 2. 1937. S. 9—23.)

Die Arbeit behandelt nachstehende Rosenkrankheiten: Mancha branca (Sphaerotheca pannosa [Wallr.] Lév.), ferrugem da roseira (Phragmidium subcorticium [Schr.] Wint.), mancha franjada (Marssonia rosae [Bon.] Br. et Cav.), mancha parda (Mycosphaerella rosigena Ell. et Ev.), cercosporiose da rosa (Cercospora sp.), septoriose da roseira (Septoria sp.) und sequidão das folhas (Phyllosticta sp.). Die jeweiligen makro- und mikroskopischen Krankheitsbilder werden ausführlich beschrieben und durch zahlreiche Abbildungen veranschaulicht, denen weiterhin Angaben über die klimatischen Faktoren folgen, die eine Massenvermehrung des betreffenden Pilzes begünstigen. Besonders ausführlich werden die jeweiligen Bekämpfungsmaßnahmen geschildert.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Bondar, G., A phytopathologia e a cultura cacoeira no Brasil. (Rodriguesia. Bd. 2, Sondernummer. 1937. S. 197—198.)

Das brasilianische Kakaoanbaugebiet hat seinen Mittelpunkt im Staate Bahia. Durch Pflanzenkrankheiten werden durchschnittlich 15% der Ernte vernichtet, wofür in der Hauptsache Phytophthora faberi verantwortlich zu machen ist. *M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).*

Abgeschlossen am 15. März 1939.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 100. No. 14|17.
Ausgegeben am 1. Juni 1939.

Chromobacterium iodinum (n. sp.).

[The National Institute for Research in Dairying, University of Reading, England.]

By **J. G. Davis.**

An agar plate poured in the course of milk examination was observed to contain an unusual type of colony, the surface being covered with small crystals of a pigment closely resembling ordinary iodine. Investigation showed that the causal organism and its pigment were not identical with any described in the literature (1), [compare also Tables 1 and 2 in which the cultural characteristics of Chromobacterium iodinum and the solubilities of its pigment are compared with those of Chromobacterium violaceum (2), Chromobacterium amethystinum (3) and Pseudomonas indoloxidans (4)], and in this paper are recorded some observations on the bacteriology of this apparently new species of Chromobacterium and the chemistry of its pigment.

Cultural characteristics.

Morphology. A 24 hour agar slope culture consisted entirely of small blunt rods (resembling ordinary coliform bacteria), occurring singly and having a length of from 1 μ to 2 μ and a breadth of about 0.5 μ. Motility was never observed in cultures of any age from 4½ hours upwards in broth or on agar, and flagella could never be demonstrated. The bacterium was non-capsulated and did not form spores. Cells were invariably Gram-negative.

Cultural properties. Nutrient agar (surface colonies); Round, smooth, grey-white, moist and shining. After initial growth dark purple crystals with a copper-coloured hue appeared on the colony and later in the adjacent medium.

Depth colonies: Yellowish, lenticular.

Meat extract gelatine stab: Stratiform liquefaction, growth only occurring in the liquefied portion of the medium. Crystals of pigment were observed on the surface and at the bottom of the liquefied gelatine.

Meat extract broth: Turbidity in upper half of the medium. Crystals of the pigment accumulated at the bottom of the tube.

Litmus milk: Reaction slowly turned alkaline; reduction of the litmus was observed at the bottom of the tube. No pigment.

Potato (neutral): Viscous, creamy, spreading growth. Slight blackening in old cultures. Little pigment.

Beerwort agar slope (pH 6.8): Luxuriant growth, similar to that on agar. Good pigment.

Table 1.

Cultural reactions	Chr. violaceum	Chr. amethystinum	Ps. indoloxidans	Chr. iodinum
Motility	+	—	+	—
Gram reaction	—	—	—	—
Spore formation	—	—	—	—
Aerobic growth	+	+	+	+
Anaerobic growth	+	+	—	(+)
Gelatine liquefaction	Infundibuliform	Infundibuliform	—	Stratiform
Broth: pellicle	+ and —	+	—	—
turbidity	+	+	+	+
Milk: clot	(+)	—		—
peptonisation	+	+		slow
reaction	alkaline	alkaline		alkaline
Indol production	—	—	—	—
H_2S production	—	—		—
Dextrose broth: acid	+	+	—	—
gas	—	—	—	—
Nitrate reduction	—		+	+

Table 2. Solubilities of various pigments.

Solvent	Chr. violaceum	Chr. amethystinum	Ps. indoloxidans	Chr. iodinum
Water	—	—	—	—
Alcohol	+	+	—	(+)
Chloroform	—			+
Carbon disulphide	—			+
Petroleum ether	—			+
Acetic acid	—			—
Ether	+		—	—
Acetone	+			+
Benzene			—	+

Biochemical characteristics.

Respiration: The bacterium was preferentially aerobic and only weakly facultatively anaerobic. Catalase reaction: strongly positive. Nitrates readily reduced to nitrite but not to ammonia.

Protein metabolism: Casein not vigorously attacked. Gelatine liquefied. Indole not formed from peptone.

Carbohydrate metabolism: No acid was produced from any sugar in sugar peptone broths. Since this method is not reliable for detecting slight fermentation of sugars, especially if ammonia is formed from peptone, a metabolic experiment (5) was carried out with the following result (see Table p. 275).

Methyl red test: negative. Vosges Proskauer reaction: negative.

Temperature range of growth (3 days).

Temperature	3°	15°	22°	25°	28°	37°
Growth	—	—	++	++	+++	++

Carbohydrate	Fermentation	
	Aerobic	"Anaerobic" (sealed under vaseline)
Dextrose	0	0
Arabinose	0	0
Mannitol	0	0
Fructose	0	0
Trehalose	0	0
Maltose	0	0
Lactose	0	0
Salicin	0	0
Aesculin	0	0
Raffinose	0	0

Pigment formation.

Pigment was normally formed after growth had taken place, as is usually the case with pigment-forming bacteria. The best yield of pigment was obtained by cultivation for a few days at 28° C. and then keeping the culture at room temperature (about 15° C.) for some little time.

Effect of medium on pigment formation. In general pigment was readily formed on any medium containing soluble nitrogenous compounds, peptone being apparently better than meat extract. Sugars did not increase the formation of pigment. The following amino-acids were added to nutrient agar without increasing the production of pigment: alanine, glycine, arginine, asparagine, leucine, histidine, valine and glutamic acid. Tryptophane and cystine (0.03%) depressed or inhibited pigment formation, while tyrosine sometimes increased it. Potassium and sodium citrates markedly increased the amount of pigment formed but ammonium citrate did not. Beerwort stimulated and yeast extract depressed pigmentation. It appeared, therefore, that these crystals were an end-product of protein metabolism since the bacterium was unable to metabolise carbohydrate.

Solubility reactions of the pigment. For the investigation of the solubilities of the pigment in different solvents, streaked agar plates were left at room temperature for one or two weeks to obtain a maximum quantity of the pigment. The plates were then flooded with the solvent, with the following results: — Readily soluble in: benzene, toluene, xylene, chloroform, carbon disulphilde and ethyl acetate. Slightly soluble in hot alcohol. All these solutions were ruby red in colour. An ethyl acetate solution on evaporation deposited crystals resembling faggots. The pigment was soluble in benzene to the extent of 0.1%. Water, cold alcohol, aqueous alcohol, acetic acid, petroleum ether, amyl alcohol and ether did not dissolve the pigment.

Chemical behaviour of the pigment. The dark purple crystals were stable to the following reagents: — concentrated hydrochloric acid, formaldehyde, acetic acid plus nitrite, dilute hydrochloric acid plus zinc, hydrogen peroxide and potassium persulphate. Oxidation with bromine water gave an orange turbid solution, and chlorine bleached the pigment. The addition of alkali converted the pigment into a blue-green, water-soluble salt. This form, however, was very unstable and on heating was changed to a grey colloidal substance. Reacidification and addition of benzene resulted in the reformation of the original pigment, accompanied by some loss. On standing in alkali the pigment was destroyed.

It is thus apparent that the pigment is a natural indicator, existing as a red-black form soluble in organic solvents of the benzene type at pH values below a certain alkalinity and as a blue-green unstable salt at pH values above this. The critical pH was found to be about 12.5. Accordingly a glycine-sodium hydroxide buffer was made up and a benzene solution of the pigment treated with the buffer at various pH values with the following results:

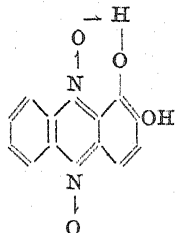
p_H	Phase	
	Benzene	Aqueous
All p_H values below 12	Deep pink	Colourless
12.0	Deep pink	Very faint blue-green
12.1	Deep pink	Very faint blue-green
12.5	Pink	Blue-green
12.8	Very faint pink	Deep blue-green
13.0	Very faint pink	Deep blue-green

It is evident that the pigment as produced by the bacterium can function as a weak acid having an apparent pK of about 12.5.

Absorption.

The pigment in benzene solution gave a general absorption from 4700—5700 mμ, the absorption being strongest at the yellow end.

Structure.

The pigment has been studied by Clemo and McIlwain (6) who ascribe the following probable formula to it:

1 : 2 dihydroxy phenazine di-N-oxide.

Summary.

The morphological, cultural and biochemical behaviour of a new Chromobacterium, Chromobacterium iodinum, and its pigment formation are described.

I am indebted to Mr. W. A. Hoy for the original culture.

References.

(1) R. St. John Brooks; M. Grimes; A. T. R. Mattick and R. S. Williams (1931). Private communications. — (2) Bergonzoni. (Società d. Naturalisti in Moderna. Ser. 2, 14. 1881, 149.) — (3) Eisenberg, Bakt. Diagnostik. 1891. p. 421. — (4) Gray, Proc. Royal Soc. London. B, Vol. 102. 1928. p. 263. — (5) Davis, Journ. Path. Bact. 1939. In press. — (6) Clemo and McIlwain, Journ. Chem. Soc. 1938. p. 479.

Biochemischer Prozeß bei der Moorbildung im Pomoriasee.

[Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der med. Fakultät Sofia.
Vorstand: Prof. Dr. Wl. N. Markoff.]

Von **Wl. N. Markoff.**

Der Zweck unserer Untersuchungen war die Erforschung der biochemischen Prozesse, welche die Entstehung des Moores im Pomoriasee begleiten. Im Pomoriasee sind die Ursachen der therapeutischen Wirkung viel komplizierter als bei jeder anderen Heilquelle, weil außer Wärme, mechanischen und elektrischen Energien, mit ihrer unbekannten physiologischen Wirkung, gleichzeitig teilnehmen: Kochsalz, Chlormagnesium, Sulfate, Kalzium, Silizium, Eisen, Schwefel, Jod, organische Säuren, ihre Salze, außerdem die Wirkung des Schwefelwasserstoffes, der in größeren Mengen vorhanden ist.

Besondere Bedeutung muß der Anwesenheit von Schwefelwasserstoff im Pomoriasee beigemessen werden, da dieser nicht im Status nascendi entsteht wie in den heißen Schwefelquellen, vielmehr biogener Herkunft ist (6). Folglich sind sein Quantum, seine Herkunft und sein Schicksal abhängig von biologischen, meteorologischen, klimatischen und geologischen Faktoren. Zur Bestätigung dessen lassen sich Untersuchungen von P. Bujor [1]) anführen, der festgestellt hat, daß die Zusammensetzung und die Eigenschaften des Moores von Tékirghjöl (Rumänien) in den letzten Jahren sich wesentlich verändert haben.

In Bulgarien fehlen bisher vergleichende Untersuchungen, um etwa eingetretene Veränderungen in der Zusammensetzung des Pomoriamoores besonders in seiner spezifischen Heilwirkung nachweisen zu können (16).

Es ist von vornherein darauf hinzuweisen, daß in dieser Hinsicht wesentliche Unterschiede bestehen bezüglich der Umstände, bei denen jeweils die Veränderungen im Tékirghjöl und im Pomoriasee zustande kommen.

Das Moor im Tékirghjöl wird übrigens seit langem schon zu Heilzwecken benutzt, das Pomoriamoor dagegen erst seit wenigen Jahren. Es dürfte nicht außer Acht gelassen werden, daß der balneologisch-therapeutische Wert der Moorwässer in der kombinierten Wirkung von Moor und heißem Wasser besteht und daß letzteres die Entwicklung der vegetativen Formen aller derjenigen Mikroorganismen beeinflußt, die unmittelbar an der Bildung einiger spezifischer Heilprinzipien beteiligt sind, wie das bei dem Schwefelwasser der Fall ist.

Im Laufe der Zeit braucht die erhitzte Moormasse, nachdem sie zu Heilzwecken verwendet worden ist, eine längere oder kürzere Frist, um sich von neuem in eine „lebende" Masse zu verwandeln, d. h. um von neuem ihre ursprüngliche Zusammensetzung und Eigenschaft anzunehmen.

Die erwähnten Veränderungen bestehen hauptsächlich darin, daß die Masse oxydiert und damit ihre wertvollste Eigenschaft verliert: die Plastizität.

Der Pomoriasee, Gegenstand unserer Untersuchungen, befindet sich ungefähr 2 km nördlich von der Stadt Pomorie in der Nähe der Hafenstadt Burgas am Schwarzen Meere. Der See ist vom Meeresufer durch einen schmalen Landstreifen getrennt. Die Bestandteile (9) dieses 100—200 m breiten Landstreifens sind

folgende: Magnetit 3,6%, Avgit (dunkelfarbiges Al, Fe, Mn) ungefähr 35%, Olivin (olivengrünes silikat Mg, Fe, Mn) etwa 30%, Muschelschalen etwa 25%, Quarz und andere ungefähr 6,40%. Die schwarze Farbe rührt von dem Magnetit her.

Der Erdboden um den See herum ist mit der für das Meer charakteristischen Flora bedeckt. Der See ist fast 7 km lang, seine Breite schwankt zwischen 600 und 1800 m, seine Tiefe zwischen 1—3 m. An der Nordseite hat der See den Zufluß eines Baches, der jedoch im Sommer austrocknet. Einmal jährlich wird dem See Meerwasser zugeführt.

Die chemische Zusammenstellung seines Wassers ist nach Karaoglanoff und Hadjieff (5) folgende:

	Großer See	Schwarz. Meer-Wasser
KCl_2	1,6048	0,3110
NaCl	53,7894	13,3334
NaBr	0,2881	0,0599
$MgCl_2$	7,4740	1,6353
$CaSO_4$	1,6769	0,8456
$MgSO_4$	5,4794	0,9371
$Mg(HCO_3)_2$	0,2920	0,2634
Trockensubstanz . . .	70,4819	17,2761
Spezifisches Gewicht . .	1,0540	1,0134

Der Pomoriasee mit seinem Moor ist dem Typus der sog. Limanen (20) zuzurechnen, wie sie sich sehr zahlreich an den Ufern des Schwarzen Meeres in der Nähe von Odessa (11, 12) befinden; er unterscheidet sich von letzteren jedoch durch seinen hohen Salzgehalt. In den größeren Tiefen ist der Grund des Sees teils mit reinem, teils mit Lehm gemischtem Sand bedeckt. Das Ufer ist von einem bald schmaleren, bald breiteren Rand aus Moor umgeben, der stellenweise mehr als 1 m tief ist.

Das Moor ist schwarz und von zäher Konsistenz. Seine dunkle Farbe ist auf seinen Eisensulfidgehalt zurückzuführen. Das jungfräuliche Moor, das gegenwärtig zu Heilzwecken verwendet wird, befindet sich unter der Salzwasserschicht des Sees. Es besteht aus einer plastischen, teigigen Masse von schwarzer Farbe, sie riecht stark nach Schwefelwasserstoff und hat deutlich alkalische Reaktion. Seine gewöhnliche Mischung besteht aus feinem Sand, etwas Lehm, reichlich Eisen, Schicht von Salz und Muschelschalen.

Der Luft ausgesetzt, ändert sich die Farbe des festen Moores sehr bald und wird zu einer grauen Masse. Die Schnelligkeit dieses Entfärbungsprozesses hängt ab von der Dicke der Moorschicht. Es handelt sich hier um reine Oxydationsprozesse, bei denen der Sauerstoff der Luft gierig aufgenommen wird. Durch die Oxydierung verwandelt sich das Eisensulfid in kolloides Ferrihydrat. Hierdurch kommt der Entfärbungsprozeß zustande, ohne daß damit die Festigkeit des Moores verändert wird. Letztere schwindet beim Austrocknen des Moores, wodurch es zu Staub zerfällt. Unter diesen Umständen ist seine Erneuerung nicht möglich.

Diese Vorgänge lassen sich experimentell verfolgen. Besonders gut lassen sich diese Beobachtungen machen am Moor, das zum Baden benutzt worden ist und — am Seerande aufgehäuft — atmosphärischen Einflüssen ausgesetzt ist. Man sollte aus diesem Grunde das zum Baden verwendete Moor möglichst unmittelbar nach Gebrauch in das Seebecken zurückbefördern, damit es den Charakter und die Eigenschaften des normalen schwarzen Moores von neuem annimmt. Diese zwei Oxydationsprozesse des Moores mit ihren Veränderungen an Farbe und Festigkeit sind von zwei Phasen begleitet: 1. Phase des Graufärbens und 2. Phase des Zerfallens des grauen oxydierten Moores. Im ersten Fall handelt es sich um die unmittelbare Wirkung des

Sauerstoffes der Luft, Oxydierung des Eisensulfids; der zweite kommt zustande auf Kosten des gebundenen Sauerstoffes im Ferrioxyd, d. h. hier handelt es sich um einen endothermischen und im ersten Fall um einen exothermischen Prozeß. Diese Bedingungen zur Schwarzfärbung des grauen oxydierten Moores lassen sich versuchsweise verfolgen. Gibt man in eine Eprouvette infiziertes, oxydiertes Moor mit frischem Moor und gießt darüber eine beträchtliche Schicht Seewasser, so zeigen sich in kurzer Zeit auf der Oberfläche kleine schwarze Flecken, die sich nach und nach vergrößern und ineinander übergehen, bis zum Schluß die ganze Masse eine intensive dunkle bis schwarze Farbe annimmt und zugleich die ihr eigene charakteristische Festigkeit. Bei sämtlichen Kontrollversuchen, die mit sterilisiertem Moor angestellt wurden, behielt das graue oxydierte Moor unverändert seine Eigenschaften bei. Die mit dem Farbwechsel zusammenhängenden Erscheinungen in der Eprouvette sind auf die Anwesenheit einer mikrobiellen Flora zurückzuführen, die spezifisch ist für den Pomoriasee. Es ist daher anzunehmen, daß die Schwärzung des grauen, oxydierten Moores auf endothermische Prozesse zurückzuführen ist; diese stehen im Zusammenhang mit dem Stoffwechsel bestimmter Organismen, die geeignet sind, die nötige Energie von Stoffen herbeizuschaffen, die in ihren Molekülen gebundenen Sauerstoff enthalten.

Unter diesen Umständen dürfte die Annahme zulässig sein, daß stickstoffhaltige und stickstofffreie Stoffe, die Anwesenheit von Aminosäuren und Kohlenhydraten unter dem Einflusse von Kohlensäure an der Entstehung eines Teiles der dunklen bis schwarzen Masse mitwirken. Zweifelsohne besteht das gesamte Leben auf dem Grunde des Sees in einem ununterbrochenen Prozeß von Bildung und Zersetzung von organischen Stoffen, da ein größerer Teil der Kohlensäure und stickstoffhaltigen Verbindungen von allen möglichen niederen Organismen assimiliert wird.

Aus der Intensität, mit der die dem Leben der Mikroorganismen verbundenen Erscheinungen vor sich gehen, läßt sich auf deren absolute und relative Quantität schließen; ihre Vielgestaltigkeit weist auf den Charakter der biochemischen Prozesse hin.

Folgende Daten geben Aufschluß über die Verhältnisse:

Im ersten Falle stellten wir durch Gewichtsbestimmungen die Bakterienmenge im Moor während der verschiedenen Jahreszeiten fest. Zu diesem Zweck wurden Agar resp. Gelatinekulturen angelegt, die bei 10 und 20° C bebrütet wurden. Zeit der Beobachtung: 10 Tage.

Die Nährböden wurden auf folgende Weise hergestellt: 1 kg Moorschlamm wurde mit 1—½ l Leitungswasser vermischt, die Mischung auf offener Flamme etwa 10 Min. lang unter dauerndem Rühren gekocht. Darauf wurde der Brei filtriert.

Im 750 ccm von diesem klaren Filtrat beigegeben:

K_2HPO_4	0,10%
Asparagin	0,20%
$(N_4H)_2SO_4$	0,10%
Gelatine	10,00%
oder Agar	2,00%

Filtrieren, Sterilisieren durch heiße Wasserdämpfe oder auf 2 Atm. ergab folgendes Resultat:

		August 1934	Dezember 1935
Maximum in 1 g Moor	Agar	2 260 000	6 060 000
	Gelatine	8 590 000	10 620 000
Minimum in 1 g Moor .	Agar	940 000	4 830 000
	Gelatine	—	9 360 000

Bei der obigen Nachprüfung der Bakterienmenge sind die anaeroben Mikroorganismen nicht berücksichtigt, ebensowenig diejenigen, welche elektive Nährböden verlangen. Folglich lassen sich aus diesen Ziffern keine Schlüsse ziehen auf die Bakterienmenge im Pomoriasee. Wir benutzten daraufhin die bakteriologischen Methoden, und es gelang, aus dem Moor bzw. aus dem Schlamm auf Agar resp. Gelatine folgende Organismen zu isolieren:

Microc. aureus	Bact. vulgare und ähnl. Varietäten
,, candicans	Bac. agilis
,, flavus	,, Ellenbachensis
,, subgriseus	,, megaterium
,, sulfureus und andere	,, pseudotetani
Bact. aureus liquef.	,, simplex
,, coli ähnliche Stämme	,, subtilis
,, fluorescens l. f. und non liquef.	,, aerophilo-similis
,, punctatum	,, mucosus
,, putidium	,, myxococ. ruber
,, Zopf	

In diese Zahl sind drei neue Vertreter saprophitischer Vibrionen (4) einzuschließen: Ein chromogener (rote Kolonien auf Agar von Moorextrakt), ein zweiter, der sich wie Choleravibrionen verhält, und ein dritter, der sich sehr schwach, und zwar nur auf Cholera-Alkali-Agar entwickelt. Hierher gehört ebenfalls ein chromogener sporentragender Bazillus (rote Kolonien auf Moorextrakt), ein anderer chromogener ovoider Organismus, ein Bazillus, morphologisch den Fusiformen ähnlicher, und zwei Vertreter von Leuchtbakterien.

Vergleicht man diese Resultate mit den bakteriologischen Untersuchungen der Limanen in Rußland (7, 18) und Tékirghjöl in Rumänien, so fällt die Verschiedenheit und die große Menge der Mikroorganismen im Pomoriasee auf. Dabei hatten wir die Möglichkeit, in größerem Maßstabe die Bedingungen zu verfolgen, bei denen die Prozesse der Schwarzfärbung des grauen oxydierten Moores vor sich gehen.

Nach Brussilowsky (20) ist dieser Prozeß auf eine beschränkte Anzahl Organismen zurückzuführen, die nach ihrer Beschreibung zur Familie Spirillen von der Klasse der echten Bakterien gehören. Die drei Vertreter, von denen er spricht: Vibrio sulfureus, gleichen einander.

Omeliansky (11) leugnet die Bedeutung der Versuche Brussilowskys nicht, er findet indessen nicht ausreichende Begründung für die Annahme, daß gerade diese Bakterien die spezifischen Erreger der Reduktionsprozesse des Schwarzfärbens sein sollten.

Da wir in dem Prozesse des Schwarzfärbens eine zusammengesetzte Erscheinungsform vermuteten, so suchten wir nach der Verbindung zwischen dieser und der Produktionsfähigkeit der von uns isolierten Organismen. Wir stellten fest, daß von 17 Arten 8 Schwärzung des grauen oxydierten Moores hervorrufen; 1 Art gab eine zweifelhafte Reaktion, 5 riefen überhaupt keine Reduktionsprozesse hervor. Gleichzeitig konnten wir feststellen, daß die ersten 8 Arten Schwefelwasserstoff produzierten und Ammoniak und Aminobasen in Bouillon bilden. Von der dritten Gruppe ließ sich keine Schwefelstoffbildung mit Bleiessig nachweisen. Ammoniak und Aminobasen fehlten jedoch nicht. Dabei waren diejenigen Kontroll-Eprouvetten besonders wichtig, die, ohne sich mit den betreffenden Bakterien zu infizieren, eine ausgesprochene Schwarzfärbung aufwiesen, bei einer unbedeutenden Beimischung von Schwefelwasserstoff.

Daraus geht hervor, daß zur Reduktion von grauem oxydierten Moor Schwefelwasserstoff und alkalische Reaktion erforderlich sind. Die Behauptung Brussilowskys also, daß nur die Vibrionen Vibrio sulfureus die Faktoren seien, welche die mit der Schwärzung des grauen

oxydierten Moores zusammenhängenden Prozesse verursachen, nicht den Tatsachen entspricht. Wir sehen, im Gegenteil, daß hier eine sehr große Gruppe Mikroorganismen beteiligt ist, der die Bildung von Schwefelwasserstoff eigen ist.

Die natürlichen Bedingungen, unter denen die Moorbildung im Pomoriasee zustande kommt, lassen sich experimentell nicht nachweisen, da hier verschiedenartige Faktoren teilnehmen, von denen einige sich bei Laboratoriumsversuchen nicht heranziehen lassen. Nur auf dem Wege indirekter Methoden war zu Resultaten zu gelangen.

Dem Vorgang der Moorbildung liegen Prozesse der Umbildung von komplizierten organischen und anorganischen Körpern zugrunde. Die biochemischen Prozesse werden in diesem Falle von klimatischen und meteorologischen Faktoren unterstützt. Geologische Strukturen des Bodens, Süßwasserzufluß, das Seewasser selber, wie Flora und Fauna sind bestimmend für den spezifischen Charakter des berühmten Heilmoores vom Pomoriasee.

Zweifelsohne sind die Bedingungen für die Entwicklung von Leben im Pomoriasee sehr viel günstiger als im Meere, da das Wasser reichlichere anorganische Stoffe enthält, viel ruhiger ist und die Temperatur um einige Grade höher ist.

Wenn wir die Theorie von Karaoglanoff-Hadjeff (5) über den Ursprung bzw. die Bildung des Pomoriasees aus dem Schwarzen Meere annehmen, so steht es doch außer Zweifel, daß ein Teil der aktiv wirkenden Agenten (Mikroflora und Mikrofauna) ihren Ursprung vorzugsweise im Meere haben. Es ist zu bemerken, daß alljährlich ein Zustrom von Meerwasser in den See geleitet wird, durch welchen der Zufluß von Mikroorganismen unterhalten wird, andererseits führen Regengüsse einen großen Teil organischer und anorganischer Stoffe mit sich.

In Anbetracht dieser Umstände ist anzunehmen, daß mit dem ursprünglichen Seewasser der für das Schwarze Meer typischen höheren Flora und Fauna die verschiedensten Vertreter von Bakterien übergegangen sind. Da das Leben im weitesten Sinne des Wortes einen ununterbrochenen Prozeß von Synthese und Verwesung bildet, so ist mit aller Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß gleichzeitig mit autotrophen Mikroorganismen Vertreter aus der physiologischen Gruppe der metatrophen Fäulnisbakterien mitgewirkt haben. Ziehen wir diese Umstände in Betracht und zugleich den Gehalt des Moores und des Seewassers, die chemische Produktivität der Mikroben, die Anwesenheit von Schwefel- und Purpurbakterien, so ist die Anwesenheit von Desulfuratoren selbstverständlich. Andererseits weist die Anwesenheit von H_2S, unabhängig von seiner Herkunft, auf das intensive Leben im See hin, das begleitet ist vom Entstehen und Verwesen organischer Stoffe. Daraus ist ersichtlich, daß die Entstehung des Heilmoores Phasen durchmacht, auf Grund derer bis zu einem gewissen Grade Schlüsse zu ziehen sind auf dessen Alter.

Auf dem flachen, sandigen Seegrunde zwischen zersetzter Pflanzenmasse ist je nach der Jahreszeit nieder- oder hochhalmiges Gras zu sehen. Ebenso, und zwar in besonders großen Mengen, über das Ufer tretende und schwimmende blaugrüne Wasserpflanzen, bald bandförmig, bald als lappige Masse. In der Tiefe wächst zartgliedriges Gras.

Die Verflechtung der genannten Gewächse mit schleimigen Wasserpflanzen und große zähe, grüne Algen bilden eine Lagerstätte für die verschiedensten Pflanzen- und Tierorganismen.

Eine genaue Abschätzung ihrer Quantität ist fast unmöglich. Dafür aber ist ihre Verschiedenheit deutlich ersichtlich, besonders bei Beobachtung der Bedingungen der Planktone während der verschiedenen Jahreszeiten. Bevor wir die Resultate unserer Untersuchungen geben, müssen wir darauf hinweisen, daß in einigen Fällen die Versuche nicht unmittelbar vorgenommen wurden, sondern nachdem das Moor mit roher Kultur angereichert wurde. Ohne damit besondere Ansprüche erheben zu wollen, müssen wir bekennen, daß wir versucht haben, auf Grund äußerer morphologischer Eigenschaften zu bestimmen:

Synedra Gallioni
Synedra ascus
Tabellaria flocculosa
Navicula elliptica (?)
Navicula pygmaeae (?)
Navicula var. Pumila Cryptocephalia
Navicula afinis
Chrococcus limneticus
Chrococcus turgidans
Oscillatoria limosa
Cosmarium Briel
Spirogyra (?)
Fusarium Sp.
Aspergillus Sp.
Penicillium

Spirochaeta plicatilis

Rhodococcus Molisch
Sporen (?)
Artemia Salina
Lembus Sp.
Cypres Sp.
Carturia Sp.
Euplotes Sp.

Pinnularia
Pleurosigma actuminatum
Cocconeis communis
Surirela striatula
Surirela ovalis et sp.
Epithemia turgide
Nitzschia sigmoidae
Gyrosigma Sp.
Oscillatoria tenuis
Oscillatoria Fröhlichii
Mougeotia genuflexa

Keimende Mucor-Sporen (?)
Syderomonas
Streptosporium corda
Spirillum volutans
Thiospirillum
Gram Pos. Streptococcus
Keimende Sporen

Muscheln Virgulina Novak
Gamarus Sp.
Ephydra Sp.
Copepoda
Chironomus als Larve

Es versteht sich von selbst, daß wir weit davon entfernt sind, mit der Bestimmung dieser wenigen Daten die Frage des Lebens der Fauna wie der Flora im Wasserbecken des Pomoriasees für erschöpft zu halten. Bei der Bestimmung der Arten benutzten wir hauptsächlich die Arbeiten von A. Schmidt (15), Syferth-Schoenichen (17) und Petkoff (13).

Es sind nicht alle beobachteten Organismen aufgeführt, aus dem einfachen Grunde, weil ihre Bestimmung nicht gelang.

Nach diesem Bilde des Lebens, das man erhält, fällt die Anfangsphase der Moorbildung auf dem Seegrunde zweifelsohne mit der Herbstjahreszeit zusammen, während derer die Vegetationsperiode der Pflanzen stillsteht und das Leben der Wasserfauna abstirbt. Ein großer Teil von allen möglichen Wasserpflanzen, Diatomeen, Protozoen werden im Wasserbecken zum Teil mechanisch umgeformt, infolge ihres Übergehens in den Verdauungskanal höherer Organismen. Damit schließen selbstverständlich die biochemischen Prozesse der Verwesung nicht ab. Die Eiweißmoleküle werden allmählich bis zur völligen Mineralisierung zersetzt.

Im Grunde also bewirken diese ursprünglichen Faktoren den Anfang des spezifischen Komplexes der Fermentationen, für die wir die Beweise aus der chemischen Produktivität der Mikroorganismen schöpfen. Es nehmen an der Moorbildung teil:

1. Biochemische Prozesse.
2. Die Tätigkeit verschiedenartiger Hyphomyzeten, Bakterien, Protozoen und höherer Organismen: Fische, Krebsarten, Würmer usw.
3. Pflanzen und ihre Teile, Wurzeln usw.

Diese Verhältnisse lassen sich verfolgen, sobald man Zusammensetzung und Eigenschaften des Moores in Betracht zieht. Untersuchungen in dieser Richtung sind angestellt von Zoneff und Weltscheff (20).

	I.	II.
Wasser	696,00	695,00
Sand und feiner Boden	314,00	305,00
Total:	1000,00	1000,00
berechnet auf die absolute Zahl der Trockensubstanz		
Sand	412,00	291,00
Feiner Boden	413,20	266,40
Organische Substanz	174,80	242,60
Aschenbestandteile (SiO_2 ist nicht berechnet)		
Eisen, Aluminium	194,00	138,00
Kalzium	86,80	196,80
Magnesium	11,22	9,73
Kalium und Natrium	119,80	120,87
Sulfate	Spuren	Spuren
Sulfide	i. Überschuß i. d. nassen Schlamm	
Chloride	21,90	20,60

Nacheinander mögen die Bedingungen zur Entstehung des H_2S angeführt werden (8). Es wurde schon erwähnt, daß der Augenblick der Anfangsphase der Moorbildung sich anzeigt durch Verwesungsprodukte, hauptsächlich H_2S, Ammoniak usw. Diese Prozesse lassen sich verfolgen (8). Von vornherein auszuschließen ist die Bildung von H_2S auf rein chemische Art, wie es der Fall ist, wenn Alkalien und Säuren auf die Proteine einwirken.

Die von uns nachgewiesenen Fusarien sind ohne Bedeutung, da wir sie nur ein einziges Mal feststellten, und zwar in Rohkultur (anaerob) zusammen mit Mikrospira Austerarii. Wir sind der Ansicht[1]), daß der H_2S im Pomoriasee biogener Herkunft ist, und zwar:

1. als Produkt, welches sich abspaltet bei der Bildung komplizierter Moleküle;
2. rührt er von Reduktionsprozessen der Sulfate und Thiosulfate her;
3. bildet er sich aus dem freien Schwefel im Plasma der Schwefelbakterien.

Beweise für Punkt 1 leiten wir unmittelbar aus den Resultaten der bakteriologischen Untersuchungen des Moores ab. Aus den erwähnten Arten ist ersichtlich, daß die große Mehrheit von ihnen H_2S aus Pepton bildet, unabhängig davon, ob er sich ausscheidet bei der Verwesung oder bei Abspaltungsprozessen.

Ein anderer zu erwähnender Umstand ist, daß alle Bakterien, welche in Bouillon H_2S bilden, dasselbe in größerem oder kleinerem Maßstabe in einer Mischung von Schlamm mit Wasser zu gleichen Teilen erzeugen. Zu diesem Zwecke wird die Schlammasse durch Wärme bearbeitet, bis alles H_2S entfernt ist. Die Versuche wurden von entsprechenden Kontrollen begleitet. Bemerkenswert ist, daß zwischen den isolierten Bakterien sich eine Menge von Bact. proteus und Bac. mycoides befinden, welche unter

anaeroben Bedingungen in Anwesenheit von Pepton die Sulfate für Schwefelwasserstoff reduzieren. Diese Beobachtungen sind erstmalig von Nadson (10) gemacht worden.

Zieht man die Anwesenheit der ungeheuren Bakterienmengen im Seeschlamm in Betracht und gleichzeitig die eben angeführten Tatsachen, so kann es keinem Zweifel unterliegen, daß ein beträchtlicher Teil des H_2S auf Verwesungsprozesse, die mit dem Leben gewisser Mikroorganismen in Zusammenhang stehen, zurückzuführen ist.

Da das Leben jedes lebenden Organismus sich auf Oxydations- und Reduktionsprozessen aufbaut, die mit besonderen Eigenschaften des Plasmas zusammenhängen, so ist anzunehmen, daß bei letzteren der nascende Wasserstoff resp. das Methan an der Bildung des H_2S im Pomoriasee teilnimmt.

Zur Erforschung der Frage, inwieweit die Zersetzung der Zellulose mit der Bildung von H_2S im Pomoriasee verbunden ist, wären Versuche nötig, durch welche die bestehenden Bedingungen nachgewiesen würden, unter denen die entsprechenden Erreger ermittelt werden könnten.

Bei den Isolierungsversuchen hielten wir uns an die Methoden der anaeroben und der aeroben Kultivierung. Für die anaerobe Kultivierung wurden ein Liter-Stehkolben verwendet, angefüllt bis zum Halse mit Omeliansky-Lösung. Nach Infektion der Lösung mit Teichschlamm, See- und Meergras wurden Ausschnitte von Filterpapier in die Kolben gegeben. Kultivierung bei 30° C und 37° C im Laufe einiger Wochen. Am Ende der zweiten Woche hatte sich bei einem Versuche bei 30° C eine unbeträchtliche Menge Gas angesammelt. Augenscheinliches Zerfallen des Filterpapieres fehlte. An Stelle der Zellulosefermentation hatten sich optimale Bedingungen gebildet zur Oxydierung des H_2S, hervorgegangen aus dem Schlamm. Das ließ sich feststellen aus der massenweisen Anwesenheit von farbigen Schwefelbakterien und aus dem Fehlen von H_2S in den Kolben.

In den anderen Versuchsserien bei 37° C ergab sich um die dritte Woche folgende Lage: Überschuß an Sauerstoff, Zerfallen der Zellulose, am nächsten Tage, nachdem der Inhalt der Kolben in Berührung mit dem Sauerstoff der Luft gekommen war, stürmische Schwefelwasserstoff-Fermentation; Schwefelbakterien fehlten.

Die unter diesen Umständen gebildeten Säuren: Essig- und Buttersäure und der Wasserstoff, sind ein augenscheinlicher Beweis dafür, daß im Pomoriasee alle Bedingungen vorhanden sind für eine anaerobe Zellulosefermentation. Folglich muß der Wasserstoff in Statu nascendi die Ursache sein für die Bildung von Schwefelwasserstoff.

Inwieweit übrigens dieser Fermentationsprozeß gemäß der Gleichungen von Omeliansky (11, 12) verläuft, wird sich später zu erörtern Gelegenheit finden.

Nadson (10) erklärt die Bedingungen dieses Typus H_2S-Fermentation unter Berücksichtigung des hydrolytischen Zerfalles der Zellulose.

Es ist hinzuzufügen, daß unsere Versuche, aerobe Fermentation der Zellulose mit Material aus dem Pomoriasee hervorzurufen, vollkommen gelungen ist, und zwar nach dem Verfahren von Iterson (3).

Punkt 2. Wie übrigens zu erwarten war, muß zugestanden werden, daß das wirkliche Reservoir für den H_2S des Teiches von Sulfaten herrührt, die einer anderen spezifischen anaeroben Fermentation angehören.

In dieser Richtung haben unsere Untersuchungen ergeben, daß die in Betracht kommende Schwefelwasserstoffbildung entsteht durch Reduktion der Sulfate, was von Microspira Aestuarii bedingt ist.

Da wir das Verfahren von Delden ebenso von Rank und Löw zum Nachweis der Mikrospira etwas umständlich fanden, benutzten wir als Rohkultur Schlammextrakt mit Asparagin 2,20%, K_2HPO_4 0,10%, $(NH_4)_2SO_4$ 0,10% mit besserem Erfolge

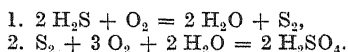
Nach 3—4 Tagen ist Mikrospira angereichert, so daß man sie gleich darauf anaerob auf folgendem Nährboden isolieren kann:

Schlammextrakt 250,0, Asparagin 0,20, Natriumlactat 1,25, $(NH_4)_2SO_4$ 0,50, K_2HPO_4 0,10, Mohrsalz in Spuren, Agar (bzw. Gelatine 25,0) 5,0.

Punkt 3. Die dritte Möglichkeit, die uns half, die Bedingungen zu erkennen, unter denen die Bildung von H_2S im Pomoriasee vor sich geht, war die massenhafte Anwesenheit von farbigen und farblosen Schwefelbakterien. Die Schwefelbakterien, die, wie bekannt, in ihrem Plasma Schwefeltropfen enthalten, vermögen gewisse anorganische Stoffe zu oxydieren. Dieser Oxydationsprozeß ist die einzige Quelle der Energie für sie. Schwefelbakterien kommen überall da vor, wo eine Verwesung auftritt, die von H_2S-Bildung begleitet ist, und zwar gerade da, wo Sulfate nicht fehlen. Die Schwefelbakterien benutzen die Sulfate nicht unmittelbar als Nahrung, noch können sie aus ihnen Schwefelwasserstoff bilden, der ihnen jedoch eine Lebensnotwendigkeit ist. Er wird oxydiert unter Bildung von elementarem Schwefel; letzterer dann durch weitere Oxydation in H_2SO_4 übergeführt.

Winogradsky (19) nimmt an, daß der Schwefel ein Zwischenprodukt ist zur Oxydierung des Schwefelwasserstoffes in Schwefelsäure.

Dieser Vorgang läßt sich am besten durch die Gleichungen von Winogradsky ausdrücken:

$$1.\ 2\,H_2S + O_2 = 2\,H_2O + S_2,$$
$$2.\ S_2 + 3\,O_2 + 2\,H_2O = 2\,H_2SO_4.$$

Diese Tatsachen sind von Bedeutung für uns, da sie Grund geben zu der Annahme, daß im Pomoriaschlamm H_2S sich aus der sog. Hydrogenisation des Schwefels bildet. Die letztere bezieht sich auf den Schwefel, der sich in den Zellen von einigen Schwefelorganismen vorfindet.

Aus diesem Grunde werden zunächst die Resultate aus der Erforschung des Plankton am Ufer des Sees angeführt, wo die Schwefelbakterien den Hauptkern der bakteriellen Flora im Becken des Sees bilden. Als geeignete Jahreszeit zur Erforschung der Schwefelbakterien wurde der Spätherbst gewählt, wenn sich die Überbleibsel der Pflanzen im Zustande der Verwesung befinden.

Bei den vergleichenden Versuchen des Planktons an flachen und geschützten Stellen gegen das Ufer hin und in der Nähe der Bäder zeigte sich über der verwesenden Pflanzenmasse eine feine netzartige, weiße, schneeähnliche Decke, die stellenweise mit unregelmäßigen Inseln von rosa bis dunkelbraunroter Farbe bedeckt war. In ihrer Nähe sah man auf der Oberfläche Kolonien von himbeerdunkel- bis rotkohlfarbig.

Während die farblosen Kolonien der Schwefelbakterien auf fast reiner Kultur von fadenförmigen, unverzweigten und in zarte Hüllen eingeschlossenen Organismen bestanden, fanden sich auch freibewegliche einzelne Zellen von Beggiatoa, in deren Plasma sich runde Schwefeltröpfchen zeigten. Es kamen auch Exemplare vor, in denen die Plasmaeinschlüsse fehlten. Die farblosen Schwefelbakterien zeichnen sich aus durch ihre freie Beweglichkeit, das Fehlen jeder Hülle und einer Menge von Schwefelkörnern, die die Beobachtung ihrer Septierung nicht zuließen. Nach ihren morphologischen Charaktereigenschaften stellten wir folgende Vertreter von Beggiatoa fest:

1. Beggiatoa alba
2. Beggiatoa media
3. Beggiatoa minima
4. Thiospirillum (?)

Nur in einem Fall zeigten sich in den mikroskopischen Präparaten von Schlamm zwei Exemplare von unbeweglichen Fäden mit Schwefelkörnern, von zarter, kaum wahrnehmbarer Hülle umgeben. Die Anwesenheit von Gonidien veranlaßte uns, sie als Vertreter des Thiothrix anzusprechen. Hier ist zu erwähnen, daß in einem Kolben mit Seewasser und mit Artemia salina angefüllt, die Verwesungsprozesse sehr fortgeschritten waren. 3 Monate nach Zerstörung der betreffenden Organismen waren im Plankton folgende Vertreter festzustellen.

1. Chromatium Vinosum
2. Chromatium Weissi
3. Beggiatoa alba
4. Beggiatoa media
5. Thiospira agilissima
6. Cartheria sp.

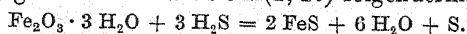
Ob in diesem Falle die Herkunft der verwendeten Substrate (tierische oder pflanzliche) eine gewisse Bedeutung hat für die Entwicklung der einen oder anderen Schwefelmikrobenart, ist eine Frage, die zu erforschen wäre. Uns interessieren hier die beiden physiologischen Gruppen farbloser und Purpurbakterien. Auf jeden Fall sind wir der Überzeugung, daß bei dem Prozeß der Transformation des Schwefels im Pomoriasee in erster Linie die Purpurbakterien wirksam sind, besonders, wo der Zutritt des Sauerstoffes begrenzt ist, die Temperatur des Wassers aber höher ist als die des Meeres. Diese Ansicht wird bestätigt durch die Beobachtung, die wir bei Versuchen zur Hervorrufung von Zellulosefermentation machen konnten nach dem Verfahren von Omeliansky.

Bei allen Fermentationsversuchen, bei denen die Zellulose unversehrt blieb, konstatierten wir am Ende der zweiten Woche intensiv rosarote Färbung, herrührend von der Anwesenheit von Chromatium vinosum und Chrom. minutissimum. Auffallend wenig waren vertreten: Chromatium fusiforme und die farblose Thiospora volutans.

Durch einen anderen erfolgreichen Versuch erhielten wir eine Kultur von Rabdomonas rosea. Ebenso zeigten sich in größerer Menge im Plankton und in Kultur (Beijerinck-Lösung) kleine bewegliche, ovale mit Schwefelkörnern gefüllte Zellen von Chromatium Okenii. Im Plankton hatten die Kolonien ein saftiges Aussehen von dunkelkirschroter Farbe und in der Kultur (an der Seite der Lichtwirkung) die Farbe von Rotkohl.

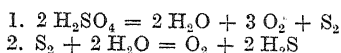
Im Grunde besteht die Bedeutung der Schwefelbakterien darin, daß sie den giftigen Schwefelwasserstoff zu Schwefelsäure oxydieren. Bei den Bedingungen, die wir im Pomoriasee haben, unterliegt der von $CaCO_3$ neu gebildete Gips von neuem der H_2S-Fermentation durch die Microspiren. Diese Prozesse hindern die Verwesung der Pflanzenreste und des tierischen Eiweißes nicht, da Bedingungen geschaffen werden für eine größere Aktivität der anaeroben Mikroorganismen und speziell der Microspira Aestuarii. Das bei der Verwesung gebildete Ammoniak, das dem Wasser die nötige Alkaleszenz verleiht, erlaubt dem H_2S auf die Eisenverbindungen zu wirken, die hier im Überschuß vorhanden sind.

Dieser Vorgang wird von Nadson (1, 10) folgendermaßen ausgedrückt:

$$Fe_2O_3 \cdot 3\,H_2O + 3\,H_2S = 2\,FeS + 6\,H_2O + S.$$

Bezüglich der Oxydationsprozesse der anaeroben Schwefelbakterien ist kurz auf die vorangegangenen Untersuchungen zurückzugreifen.

Wir weisen auf die Tatsache hin, daß, statt Bedingungen für eine voll ausgedrückte anaerobe Zellulosefermentation im Sinne Omelianskys zu bewirken, sich im Gegenteil Bedingungen zur Bildung von Sauerstoff und H_2S einstellen. Die Anwesenheit von Sauerstoff und H_2S in den Fermentationskolben hat seine Herkunft aus der Zerlegung der Sulfate, welche durch die anwesende bakterielle Flora angegriffen werden. Es handelt sich hier um bakterielle Spaltungen und Reduktionsprozesse. Anscheinend verlaufen die Verhältnisse in einer den Oxydationsprozessen des H_2S entgegengesetzten Reihenfolge.

Nach der Formel von Winogradsky (19) verläuft der Prozeß in 2 Phasen, die schematisch sich durch folgende Gleichungen darstellen lassen:

$$1.\quad 2\,H_2SO_4 = 2\,H_2O + 3\,O_2 + S_2$$
$$2.\quad S_2 + 2\,H_2O = O_2 + 2\,H_2S$$

Diese Gleichungen widersprechen nicht folgenden wichtigen Tatsachen:

1. Der Anwesenheit von Sauerstoff, die wir nachgewiesen haben.

2. Den von Roth und Siderenko (14) gegebenen Beweisen, daß der Schlamm der Schwefelwasserstoffquellen in der Natur, wie das Moor im Kajanitzsee, elementaren Schwefel enthält.

Die zweite Phase des Prozesses ergibt sich, wie man sieht, aus der Bildung des H_2S aus elementarem Schwefel.

Bei dieser Lage der Dinge finden sich, selbst wenn wir die Behauptung von Roth und Siderenko zurückweisen, immerhin noch zufriedenstellende Erklärungen der Frage zur Bildung von H_2S darin, daß im Pomoriasee Schwefelbakterien anzutreffen sind, die elementaren Schwefel anhäufen oder abstoßen, wofür Hydrogenisationsbedingungen vorhanden sind.

Die Hydrogenisation ist ein Prozeß, der sich ausdrückt in der Bildung von Schwefelwasserstoff als Resultat der Vereinigung des freien Schwefels mit Wasserstoff.

Wie in Wirklichkeit der innere Prozeß der Bildung von biogenem H_2S verläuft, das ist bis jetzt unaufgeklärt. Ersichtlich ist es jedenfalls, daß die Fermentationsprozesse nicht ideal nach dem Vorbilde der chemischen Reaktionen verlaufen. Bei dieser Voraussetzung formulieren wir die Schlußfolgerung unserer Untersuchungen in folgende Theorie: In dem Schwefelwasserstoff-Gewässer resp. im Schlamm kann der elementare Schwefel unmittelbar aus dem Sulfat hervorgehen als Fermentationsprodukt bestimmter Organismen oder deren Stoffwechsel.

Zusammenfassung.

Die biochemischen Prozesse, welche die Moorbildung im Pomoriasee am Schwarzen Meere begleiten, stellen einen Komplex von Fermentationsprozessen dar. Die Veränderungen, welche beim Farb- und Konsistenzwechsel im Moor auftreten, sind auf Oxydations- und Reduktionsprozesse zurückzuführen. Das oxydierte Moor kann seine ursprüngliche Farbe auf chemischem oder auf biologischem Wege wiedererlangen durch die Wirkung des Schwefelwasserstoffes.

Für die Reduktion des grauen Moores sind erforderlich: alkalische Reaktion und Schwefelwasserstoff. Die Behauptung Brussilowskys, daß sich an den Reduktionsprozessen der Schwärzung des Moores nur Vibrio sulfureus beteiligt, entspricht nicht den Tatsachen. An dem Prozeß nehmen verschiedenartige Organismen teil.

Die Bildung von Schwefelwasserstoff im Seebecken hat seine Ursache:

1. in der Zersetzung der Eiweißmoleküle bzw. der Spaltung der anwesenden Schwefelwasserstoffgruppen in den Eiweißmolekülen;

2. in der Reduktion der Sulfate und der Thiosulfate durch Microspira Aestuarii;

3. in der Hydrogenisation des elementaren Schwefels als Ergebnis der Vereinigung mit Wasserstoff;

4. in der Zersetzung der Sulfate durch anaerobe Fermentationserreger. In diesem Falle scheint das Verhältnis in umgekehrter Prozeßordnung stattzufinden bei Oxydation von H_2S nach der Formel von Winogradsky. Der Vorgang geht in 2 Phasen vor sich.

Damit werden Beweise gegeben, daß im Pomoriasee die Bedingungen zur hydrolytischen Zersetzung der Zellulose vorhanden sind und somit die Voraussetzungen für die Wirkung von Wasserstoff in statu nascendi.

Literatur.

1. Bujor, P., Nouvelle contribution à l'étude de la Biologie du lac Salé de Tékirghiol. Jassi 1928. — 2. Isaćenko, B. L., Mikrobiologische Untersuchungen der Moorseen. (Arb. d. Geol. Komitees. Bd. 148. Leningrad 1927.) [Russisch.] — 3. Iterson, V., zitiert nach P. Bujor. — 4. Jatschewa, K. Zd., Typen saprophitischer Vibrionen im Pomoriasee. (Jahrb. d. Univ. Sofia, Med. Fakult. Bd. 15. 1936. S. 161.) [Bulgarisch.] — 5. Karaoglanoff, Z. und Chadjieff, M., Chemische Untersuchungen über das Wasser des Schwarzen Meeres und einiger benachbarten bulgarischen Seen. (Ebenda. Bd. 22. Heft 11. [Chemie.] 1926. S. 134.) [Bulgarisch.] — 6. Kupzis, J., Die biochemischen Vorgänge im Schwefel- und Moorbade Kemern in Lettland. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 76. 1929. S. 48.) — 7. Malianz, A. A., Mikrobiologische Untersuchungen des Kaspischen Meerbodens. Baku-Moskau 1933. S. 88. [Russisch.] — 8. Markoff, Wl., Kritik der Hypothesen der Schwefelwasserstoffbildung im Schwarzen Meer. (Jahrb. d. Univ. Sofia, Med. Fakult. Bd. 14. 1935. S. 473.) [Bulgarisch.] — 9. Mateeff, Dr., Pomoria als Seekurort. (Ztschr. f. Kinderheilkde. 1932. S. 9.) [Bulgarisch.] — 10. Nadson, G. A., Mikroorganismen als Teilnehmer der Geologie. Sept. 1903. [Russisch.] — 11. Omeliansky, W., Kreislauf des Schwefels. (Lafars Handb. d. Techn. Mykol. Bd. 3. Jena 1907.) — 12. Omeliansky, W., Grundriß der Mikrobiologie. Moskau 1926. S. 327. [Russisch.] — 13. Petkoff, St., Materialien der Wasserpflanzen an der bulgarischen Küste des Schwarzen Meeres. (Ztschr. d. bulgar. Akad. d. Wiss. Bd. 7. 1919. S. 134.) [Bulgarisch.] — 14. Roth und Siderenko, zitiert nach Karaoglanoff und Chadjieff. — 15. Schmidt, A., Atlas der Diatomaceen. Leipzig. — 16. Stoianoff, P., Der Anchialo-See und sein Heilmoor. (Jahrb. d. Univ. Sofia, Med. Fakult. Bd. 3. 1924. S. 13.) [Bulgarisch.] — 17. Syferth-Schoenichen, Einfachste Lebensformen des Tier- und Pflanzenreiches. 5. Aufl. Teil I und II. Berlin 1925—1927. — 18. Tauson, W., Wesselow, J., Aleschina, W. und Goldin, M., Über die anaerobe Mikroflora des vulkanischen Schlammes. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 90. 1934. S. 451.) — 19. Winogradsky und Beijerinck und Reypailhade, zitiert nach Omeliansky. — 20. Zoneff, Il., Die Moorbildung. (Mitteil. d. Balneolog. Vereins in Bulgarien. 1933. S. 16.) [Bulgarisch.] — Die Arbeiten der russischen Forscher: Werigo, A., Zelinski, P. und Brussilowsky, E., sind zitiert nach Il. Zoneff. — 21. Zwonitsky, H. C., Moorbehandlung. Moskau 1928. S. 15.

Film Yeasts from Pickle Brines.

By **E. M. Mrak** and **Lee Bonar.**

University of California, Berkeley, California.

Film forming yeasts and yeast like organisms occur very commonly on brines used for the storage of various fruit, vegetable and meat products. These microorganisms often cause changes which result in injury to the products on which they grow. Considerable attention has been given to the study of their physiology and control by Joslyn and Cruess (1929), Joslyn (1929), Fabian and Bryan (1932), Rahn (1931) and others. There is, however, little information concerning the taxonomy of the film forming yeasts occurring in food brines or the relation of the salt concentration to the occurrence of particular genera and species. In most instances the formation of yeast films on food brines has been attributed to species of Mycoderma or Torula. The use of the term Mycoderma for these yeasts, apparently was originated by the earlier investigators in the field. Conrad (1897) described elongate and spherical yeasts obtained from sauerkraut but failed to identify them. Wehmer (1897, 1903, 1905), Aderhold (1899 a, 1899 b) and Heinze (1900) termed yeasts which they isolated from pickle brines, Saccharomyces Mycoderma, Mycoderma cucumerina and Torula. More recently Lefevre (1919, 1920, 1924), Cruess (1924, 1928, 1930), Ayers, Barnby and Voight (1928, 1930), Joslyn (1929) and Fabian, Bryan and Etchells (1932) have referred to pickle brine film yeasts as species of Mycoderma. Sturgis (1923) identified yeast obtained from meat brines as species of Torula. Joslyn and Cruess (1929) classified 16 strains of film yeasts obtained from pickle brines into 3 groups of Mycoderma according to their salt tolerance. These groups were further divided into 7 varieties according to certain morphological and physiological characteristics.

The purpose of this investigation has been to obtain more definite information concerning the morphology, taxonomy and salt tolerance of certain film yeasts obtained from food brines.

Experimental Procedure.

Film yeasts were isolated from 29 food brines obtained from various regions in California. They were purified by plating from 8° Balling grape juice enrichment cultures and subsequent single cell isolation by the method of Avery and Leland (1927). The cultural and identification procedures of Stelling-Dekker (1931) and Lodder (1932, 1934) were followed unless otherwise stated. Color comparison was made with the color standards of Ridgway (1912). The nomenclature of Chester (1901) was used for describing giant colonies and streak cultures. Fermentation tests were made in Durham tubes. Acid utilization was determined by observing for growth in media prepared by adding 1 per cent of citric, tartaric, malic or lactic or .25% of acetic acid in place of alcohol to the synthetic alcohol medium of Stelling-Dekker (1931).

Salt tolerances were determined by observing for growth in a basal medium containing equal parts of cucumber pickle brine, fresh filtered cucumber juice and water. Salt concentrations were varied from 0 to 25% by weight as determined by titration with $AgNO_3$. Similar tests were also made with some of the cultures in 10° Balling beer wort containing added salt. pH values of the brines ranged from 4.2—4.4 as determined with the quinhydrone electrode. All salt tolerance tests were conducted at room temperature (22—25° C.). Sporulation media included cucumber, dill pickle, carrot, beet, potato and sausage wedges, Garodkowa agar slants and gypsum blocks.

Authentic cultures of Mycoderma and Debaryomyces obtained from the Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) or the American Type Culture Collection (ATCC) were used for comparison.

The organisms isolated from various pickle brine films are representatives of the genus Debaryomyces, Pichia, or Mycoderma. The brines used as source material and the respective genera obtained from them are listed in Table 1. It is evident from Table 1 that cultures of Debaryomyces were more commonly obtained from brines containing high concentrations of salt, whereas the cultures of Pichia and Mycoderma were more commonly obtained from brines containing relatively low concentrations of salt.

Table 1. Sources of Cultures Isolated.

Code	Type of Brine	% Salt in Brine	Genera Isolated
4	Dill pickle	4—6	Mycoderma
49	Dill pickle	4—6	Pichia
50	Dill pickle	4—6	Pichia
68	Zucca melon	about 15	Debaryomyces
94	Zucca melon	about 15	Debaryomyces
96	Cucumber salt stock	18—20	Debaryomyces
101	Cucumber salt stock	18—20	Debaryomyces
103	Green olive	4—6	Mycoderma
104	Cucumber salt stock	18—20	Debaryomyces
106	Dill weed	18—20	Debaryomyces
107	Dill pickle	4—6	Pichia
108	Cauliflower	18—20	Debaryomyces
109	Dill pickle	4—6	Pichia
110	Cucumber salt stock	18—20	Debaryomyces
111	Cucumber salt stock	18—20	Debaryomyces
112	Dill pickle	4—6	Pichia
113	Ham	18—20	Debaryomyces
114	Ham	18—20	Debaryomyces
187	Cucumber salt stock	18—20	Debaryomyces
188	Cucumber salt stock	18—20	Debaryomyces
189	Sicilian olive	6—8	Debaryomyces
190	Sicilian olive	6—8	Pichia
191	Zucca melon	about 15	Pichia, Debaryomyces
304	Dill pickle	4—6	Mycoderma
310	Pickles	4—6	Pichia
314	Green olives	6—8	Pichia
338	Zucca melon	about 15	Debaryomyces

The cultures of Pichia have been identified as P. membranaefaciens Hansen and those of Mycoderma as M. decolorans

Will. The cultures of Debaryomyces on the other hand were divided into 3 distinct groups. These have been classified as Debaryomyces guilliermondii var. nova zeelandicus Lodder, D. membranaefaciens or D. membranaefaciens var. hollandicus Lodder. All of these organisms, however, differ slightly in cell size and type of growth in alcohol media when compared with the respective species or varieties described by Dekker and Lodder. These differences are not considered to be sufficient to warrant taxonomic segregation.

The cultures of Pichia formed spores occasionally on carrot wedges but not on any of the other sporulation media.

The cultures of Debaryomyces sporulated freely on Garodkowa agar slants after about 14 days of storage but sporulation was sparse on cucumber, carrot and beet wedges and gypsum blocks even after prolonged periods of storage. The temperature range for spore formation in most instances was 4—28° C. and the optimum range was about 10—22° C. At the higher temperatures, however, it was difficult to distinguish the ascospore from the ascus. This has been discussed in detail by Mrak and Bonar (1938). These peculiarities might often favor the inclusion of these organisms under the genus Mycoderma.

It was found difficult at times to distinguish the small two-celled clusters (Sproßverbände), characteristic of D. guilliermondii, from the large many celled clusters characteristic of D. membranaefaciens even when cultures from the C. B. S. were used. The two types of clusters were most easily distinguished when an 18—24 hour 5° Balling beer wort culture was used. When 10—18° Balling beer wort, or 24—48 hour cultures were used the clusters of D. guilliermondii often appeared to contain more than 2 cells.

The temperature range for growth of the cultures of Debaryomyces in 10° Balling beer wort was 1—31° C. but the optimum range was 13—28° C.

Table 2. Growth of various yeasts in cucumber brines after 5 and 18 days storage.

Culture	Source of organism	Stored 5 days							Stored 18 days					
		Per cent salt concentration												
		4.8	9.6	15.2	20.1	22.8	24	25.1	9.6	15.2	20.1	22.8	24.0	25.1
D. guilliermondii var. nova zeelandicus	pickle brine	++	++	++	++	—	—	—	++	++	++	++	++	—
D. membranaefaciens var. hollandicus	pickle brine	++	++	++	++	—	—	—	++	++	++	++	++	—
D. membranaefaciens	pickle brine	++	++	++	++	—	—	—	++	++	++	++	++	—
D. globosus	A.T.C.C.	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
M. decolorans	pickle brine	++	++	+	—	—	—	—	++	+	—	—	—	—
M. chevalieri	C.B.S.	++	++	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—
M. decolorans	C.B.S.	++	++	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—
M. lafarii	C.B.S.	++	++	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—
M. cerevisiae	C.B.S.	++	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
M. vini	C.B.S.	++	++	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—
M. tannica	C.B.S.	++	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
M. valida	C.B.S.	++	++	—	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—
P. membranaefaciens	pickle brine	++	++	+	—	—	—	—	++	+	—	—	—	—

— = no growth.
\+ = slight growth without complete film formation.
++ = strong growth with film formation.

All the cultures of Pichia and Mycoderma listed in Table 2 utilized acetic, citric, tartaric, malic and lactic acids in Dekker's synthetic medium. The cultures of Debaryomyces listed in Table 2, on the other hand, were unable to utilize these acids in synthetic medium.

All cultures of Pichia, Mycoderma and Debaryomyces from pickle brines utilized lactic acid in cucumber pickle brine containing 10% salt.

Tolerance to high concentrations of salt.

The ability of certain yeasts to tolerate relatively high concentrations of salt has been discussed by many investigators. Wehmer (1897) reported the growth of spherical yeasts in pickle brines containing 15 per cent salt. The cells were not affected by the relatively high concentration of salt. Karaffa-Korbutt (1912) reported that certain yeasts were capable of growing in brines containing 25% salt. Lefevre and Round (1919) found that a large number of rugose, cretaceous, raised colonies of Mycoderma grew on a cucumber juice agar containing 10% of added salt. Spearman, Gee and Luck (1928) grew yeast in beer wort containing 10% salt, however, growth decreased with an increase in salt concentration. Ayers, Barnby and Voight (1928) noted, after 48 hours, considerable growth of Mycoderma in olive brine containing 14% salt. Joslyn and Cruess (1929) found that the concentration of salt necessary to inhibit the growth of cultures of Mycoderma depended on the medium, pH value, and previous method of growing the cultures. Most of the organisms studied failed to grow in media containing 15% salt. Certain cultures of Willia and Mycoderma vini were found to be most tolerant to high concentrations of salt by Kroemer and Krumbholz (1932). The limiting concentration for growth was 3.5 mols per liter. Wheaton (1933) made an extensive study of the affect of salt on the growth of microorganisms. Mycoderma lactis grew in a dextrose broth containing 16.8% salt. The following grew in broth containing 11.7% salt: Debaryomyces tyrocola, Mycoderma vini, M. rugosa, M. monosa, M. cerevisiae, Pichia polymorpha, several species of Torula and a few other yeast and yeast like organisms. Debaryomyces globosum (A. T. C. C. 2053) and most cultures of Pichia were inhibited by 8.9% salt. D. globosus Klöcker was inhibited by 7.8% salt. The salt tolerance of the organisms tested however varied with the pH of the medium and the incubation temperature.

Hof (1935) reported the occurrence of D. membranaefaciens and D. guilliermondii in salted beans containing a high concentration of salt. There is no other information available concerning the salt tolerance of the genera and species occurring in pickle brine films.

A series of tests have been conducted to determine the affect of salt concentration on the growth, morphology and persistance of viable cells of the organisms isolated from brines and certain yeasts obtained from culture collections. Cucumber brines, prepared as previously described, were inoculated and observed for growth. All cultures of Debaryomyces isolated from brines were able to grow in the medium containing 24% salt but not in the medium containing 25.1% salt (Table 2). The culture of D. globosus grew in the medium containing 4.8% salt but was inhibited by 9.6% salt. The cultures of Pichia and Mycoderma obtained from brines

grew slowly in the medium containing 15.1% salt but not in the medium containing 20.1% salt. Cultures of Mycoderma obtained from other sources, on the other hand, failed to grow in the cucumber brine containing 15.2% salt. This indicates that the distribution of the various types of film forming yeasts in pickle brine films is dependant to some extent on the salt concentration. It has been found in these studies that Debaryomyces may occur on most any pickle brine containing up to 24% salt whereas Mycoderma and Pichia are limited to brines containing about 15% of salt or less.

The morphological characters of the organisms isolated from brines were not changed when subcultured from wort agar slants into the various cucumber brine media.

Films formed on the more concentrated brines were definitely different from those found in liquid wort. They were thinner and lighter in color. Some of the cultures of Debaryomyces tended to form more wrinkled films in the media containing high concentration of salt.

When growth failed to occur because of salt concentration, the inoculated brines were tested for the presence of viable cells after 60 days of storage at room temperature. Viable cells of Debaryomyces from pickle brines were obtained in most instances from medium containing 25.1% salt. Cells of the cultures of Mycoderma decolorans from pickle brines remained alive in the medium containing 22.8% salt but not in the medium containing 24% salt. Viable cells were not obtained from any of the other media in which the organisms failed to show growth.

The cultures of Debaryomyces obtained from pickle brines were compared for salt tolerance in wort and in cucumber brines with cultures of D. guilliermondii, D. guilliermondii var. nova zeelandicus, D. membranaefaciens and D. membranaefaciens var. hollandicus obtained from the C. B. S. All cultures grew in 10° Balling beer wort (pH 6) and in cucumber brine containing 17% salt but failed to grow in wort containing 20% salt. The failure of the cultures obtained from pickle brines to grow in brine containing a higher percentage of salt may be ascribed to the fact that the cultures were carried on wort agar streaks 2 years before the latter salt tests were made. The decrease in the salt tolerance of the organisms was gradual since after 1 year on wort agar the organisms obtained from brines were able to grow in wort containing about 20% of salt.

Summary and Conclusions.

1. Several film forming yeasts have been isolated from various food brines and identified as Debaryomyces membranaefaciens, D. membranaefaciens var. hollandicus, D. guilliermondii var. nova zeelandicus, Pichia membranaefaciens or Mycoderma decolorans.

2. Cultures of Debaryomyces were more widely distributed than Pichia and Mycoderma because of their tolerance to high concentrations of salt. Debaryomyces grew in cucumber brines containing 24% salt whereas the cultures of Pichia and Mycoderma were barely able to grow in brines containing 15.1% salt.

3. Authentic cultures of Debaryomyces and of Mycoderma obtained from culture collections had a much lower salt tolerance than those obtained from pickle brines.

Literature Cited.

1. Aderhold, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 5. 1899 a. S. 511. — 2. Aderhold, Landw. Jahrb. Bd. 28. 1899 b. S. 69. — 3. Avery and Leland, Journ. Expt. Med. Vol. 14. 1927. p. 1003. — 4. Ayers, Barnby and Voight, The Glass Container. Vol. 7. 1928. p. 5. — 5. Ayers, Barnby and Voight, Food Ind. Vol. 2. 1930. p. 61. — 6. Chester, A manual of determinative bacteriology. New York (McMillan) 1901. — 7. Conrad, Arch. f. Hyg. Bd. 29. 1897. S. 56. — 8. Cruess, Univ. Calif. Agr. Expt. Sta., Circular 278. 1924. — 9. Cruess, Canning Age. Vol. 9. 1928. p. 375. — 10. Cruess, Univ. Calif. Agr. Expt. Sta. Bull. 498. 1930. — 11. Fabian and Bryan, Fruit Prod. Journ. and Amer. Vin. Ind. Vol. 11. 1932. p. 134. — 12. Fabian, Bryan and Etchells, Mich. Agr. Expt. Sta. Tech. Bull. 126. 1932. — 13. Heinze, Landw. Jahrb. Bd. 29. 1900. S. 427. — 14. Hof, Rec. Trav. Bot. Neerland. T. 32. 1935. p. 92. — 15. Joslyn, Fruit Prod. Journ. and Amer. Vin. Ind. Vol. 6. 1927. p. 22. — 16. Joslyn and Cruess, Hilgardia. Vol. 4. 1929. p. 202. — 17. Karaffa-Korbutt, Ztschr. f. Hyg. Bd. 71. 1912. S. 161. — 18. Kroemer and Krumbholz, Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1931. S. 384. — 19. Lefevre, The Canner, Convention No. 1919. p. 205. — 20. Lefevre, U. S. Dept. Agr. Farmers' Bull. 1159. 1920. — 21. Lefevre, U. S. Dept. Agr. Farmers' Bull. 1438. 1924. — 22. Lefevre and Round, Journ. Bact. Vol. 4. 1919. p. 177. — 23. Lodder, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 86. 1932. S. 227. — 24. Lodder, Die Anaskosporogenen Hefen. (Ver. Kon. Akad. v. Wet. Amsterdam, Afd. Natuur. Deel 32. 1934.) — 25. Rahn, The Canner. Vol. 73. 1931. p. 42. — 26. Ridgway, Color Standards and Nomenclature. Washington D. C. 1912. — 27. Spearman, Gee and Luck, Journ. Bact. Vol. 15. 1928. p. 319. — 28. Stelling-Dekker, Die sporogenen Hefen. (Ver. Kon. Akad. v. Wet. Amsterdam, Afd. Natuurk. Deel 28. 1931.) — 29. Sturges, Bact. Abst. Vol. 1. No. 30. 1923. — 30. Wehmer, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 3. 1897. S. 209. — 31. Wehmer, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 10. 1903. S. 625. — 32. Wehmer, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 14. 1905. S. 781.

Verbreitung und Wuchsstoffbedürfnis typischer Bodenpilze.

[Lehrkanzel für Botanik, Warenkunde und technische Mikroskopie der deutschen technischen Hochschule Prag.]

Von **Anneliese Niethammer.**

Mit 4 Abbildungen im Text.

In meinen eigenen Arbeiten sowie in den Kritiken über dieselben ist wiederholt auf die vielen Lücken bezüglich unserer Kenntnisse über die mikroskopischen Bodenpilze hingewiesen worden. Drei Aufgaben, welche eng miteinander verflochten sind, haben wir hier zu behandeln. Zunächst können wir Beiträge über das Vorkommen dieser Pilze in noch nicht durchgearbeiteten Gebieten bringen. Es handelt sich um Landschaften an der Küste des Atlantischen Ozeans in Frankreich, ferner um Hochgebirgsregionen sowie Moore in dem Gau Tirol, weiter um Ackerland im nordwestlichen Sudetengau. Die zweite Aufgabe beschäftigt sich mit der allgemeinen Verbreitung dieser Lebewesen sowie ihren Beziehungen zu Untergrund und umgebenden Pflanzen. Hier werden wir bald sehen, daß typische Bodenpilze auch außerhalb ihrer eigenen Heimat im Erdboden recht verbreitet sind. Die dritte Aufgabe behandelt die Aufzucht mancher dieser isolierten Formen in synthetischer Kultur. Bei der Entfernung von dem natürlichen Standort ergeben sich oft Wachstumsschwierigkeiten. Normale Entwicklung, vor allem die Absonde-

rung von Fortpflanzungsorganen in Kulturlösungen, ist oft an den Zusatz von Wuchsstoffen der Gruppe B gebunden. Mit dem Wuchsstoffbedürfnis bei mikroskopischen Bodenpilzen befassen wir uns in der vorliegenden Arbeit eingehend.

A. Beitrag zur regionalen Verbreitung mikroskopischer Bodenpilze.

Die Entnahme der Erdproben erfolgte unter sterilen Bedingungen; die Aufbewahrung in keimfrei gemachten Glasröhrchen. Die Rohkulturen zur Sammlung der Pilze setzen wir auf Bierwürzeagar, in zerkochten Getreidekörnern und auf mit Nährsalzen getränktem Filterpapier an (1% Ammonsulfat, je 0,1% saures Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat). Stets überzeugen wir uns durch die mikroskopische Kontrolle von der Anwesenheit der Pilzfäden bzw. Konidien; dabei färben wir mit 0,1proz. Oxaminblaulösungen. Zur Bestimmung der Pilze dienen unsere eigenen Zusammenstellungen sowie die Einzelwerke von Wollenweber und Reinking, wie Zycha. Über die genauen Kulturbedingungen bei der Reinzucht berichten wir im letzten Abschnitt.

An der atlantischen Küste prüften wir drei große Gebiete, und zwar Charente inferieure, Gironde und les Landes.

Charente Inferieure.

Verschiedentlich prüfen wir das Erdreich unter Weinstöcken. Mengenmäßig treten Fusarium lateritium und Fusarium oxysporum hervor, welch letzteres durch typischen, syringenartigen Geruch ausgezeichnet ist (vgl. Wollenweber). In zahlreichen Kolonien entwickelt sich Cladosporium herbarum. Pseudosaccharomyces apiculatus, welcher in Deutschland sehr verbreitet ist, fehlt hier nicht. Ferner sind Trichoderma Koningi und Verticillium chlamydosporum vorhanden. Bei Cladosporium herbarum fällt starke Sklerotienbildung auf. 2 Proben ziehen wir unter Maispflanzen. Hier ist Fusarium argillaceum, welches die von Wollenweber beschriebenen Fruchtkörper bildet, zu erwähnen; ferner erkennen wir Penicillium bicolor, Mortierella polycephala und Torula allii. Weideland enthält 2 Pilze, die wir bereits früher gemeinsam in ähnlichen Gebieten des Sudetengaues erkannten, Fusarium oxysporum und Zygorhynchus Moelleri. Ferner ist hier noch auf Hormodendron herbarum hinzuweisen. In Heidegebieten (Erica Tetralix) erkennen wir Trichoderma Koningi; daneben sind Verticillium chlamydosporum und Macrosporium commune von untergeordneter Bedeutung. Eingehend studieren wir die Klippen und Felsen an der Ozeanküste. Hier treten Torula velutina sowie allii hervor; ferner sind Cladosporium herbarum und Hormodendron herbarum vorhanden. Verticillium ruberrinum und Fusarium moniliforme erscheinen in vereinzelten Kolonien. Gelegentlich isolieren wir Penicillium expansum, Zygodesmus albus und Trichoderma Koningi. Aus feinem Sande unter Strandkiefern isolieren wir Fusarium sambucinum sowie Macrosporium commune.

In der Landschaft Gironde prüfen wir typische Flugsanddünen. Fusarium discolor und Macrosporium commune sind zu erwähnen.

Les Landes.

Hier handelt es sich um Sandboden. Unter Weinstöcken erkennen wir Fusarium moniliforme sowie sambucinum, ferner Trichoderma Koningi. Unter Maispflanzen herrscht überragend Trichoderma Koningi vor, daneben erkennt man Macrosporium commune. Unter Strandkiefern und Farnen isolieren wir Trichoderma Koningi, gelegentlich kommt Fusarium chlamydosporum vor. Unter Erica tetralix herrscht wieder Trichoderma Koningi vor. In kleiner Menge erscheinen daneben Penicillium bicolor, Fusarium moniliforme, ferner Verticillium candelabrum.

Im Gau Tirol in den Ostalpen prüfen wir die Knieholz- sowie Felsenregion. In den Tallandschaften interessieren Moore.

Knieholz- und Felsregion in den Stubaier Alpen.

Unter Preißelbeerbüschen isolieren wir Hormiscium album, ferner Cephalosporium acremonium. Platten von Urgesteinsschiefern in 2000 m Höhe sind dicht mit schwarzen, rundlichen Flechtenkörpern bedeckt. Legt man Stücke derselben auf unsere Nährmedien aus, so entwickelt sich ein Cladosporium herbarum mit typischen länglichen Konidien. Der gleiche Pilz entwickelt sich auch, wenn man Stückchen der Schieferplatten aussät. Weiter ist auf Trichoderma Koningi hinzuweisen. Eine zweite Probe wurde von Felsen genommen, die dicht mit braunen, kugeligen Flechtenkörpern überzogen sind. Hier entwickelt sich auf Kulturmedien ein Penicillium expansum, welches reichlich fertile Sklerotien formt. Ferner ist Alternaria humicola zu erwähnen. Schnitte durch die braunen Körper von den Felsen lehren, daß hier der Flechtenpilz Asci in der Art eines Penicilliums formt. Felsboden unter Cladonia-Flechten beherbergt Alternaria humicola, ferner Trichoderma Koningi, Penicillium expansum und Mortierella strangulata. Felsboden unter Moosen führt Cladosporium herbarum und Fusarium lateritium. Von Tonschiefern in 2000 m Höhe isolieren wir in beträchtlicher Menge Penicillium expansum.

Moorgebiete bei Kitzbühel in Tirol.

Ein grau getöntes Monoverticillium der Gattung Penicillium ist reichlich vorhanden; daneben ist auf Fusarium dimerum, welches durch starke rote Farbstoffbildung ausgezeichnet ist, hinzuweisen.

Diesen Teil beenden wir mit Berichten über die Pilzflora unter Kulturboden im Gebiete von Mitteleuropa.

Feldbestände im Sudetengau.

Wir prüfen Weizen- und Roggenschläge der Fürst Löwensteinschen Besitzung in Haid im nordwestlichen Böhmer Wald. Von dem gleichen Standorte wird auch das Körnermaterial bezüglich seiner Pilzflora untersucht. Nachstehende Pilzformen sind zu verzeichnen: Cladosporium herbarum, Trichoderma Koningi, Fusarium orthoceras, Penicillium expansum, Mucor razemosus, der hier in Kultur Zygoten formt.

B. Allgemeine Verbreitung mikroskopischer Bodenpilze sowie ihre Beziehungen zu Untergrund und umgebenden Pflanzen.

In den hier untersuchten Gebieten haben wir wieder typische Bodenpilze erkannt. Es handelt sich durchweg um Formen, die wir oder andere Forscher bereits früher im Erdreich erkannt haben. Einzelne wichtige Punkte sind besonders abzuhandeln. Das Zurücktreten der Mucorineen, die in Mitteleuropa und besonders vom 50. Breitengrad gegen Norden stark vertreten sind, ist an der atlantischen Küste sowie der Hochgebirgsregion auffallend. Im Sandboden der Küstenlandschaften ist Trichoderma Koningi vorherrschend, sie drängt oft die anderen Formen vollständig zurück. Bestimmend scheint hier der Bodencharakter zu sein, da wir sie in Böhmen desgleichen häufig, ohne Begleitung anderer Formen, im Sand finden. Unmittelbar an der Küste in der Klippenzone herrschen neben anderen Formen Vertreter der Gattung Torula vor. Auf Vertreter der gleichen Gattung weist an der englischen Küste Elliott hin. Die Klippensowie Felsregionen enthalten durchweg mehr Pilzformen als wir ursprünglich annahmen. In Kulturversuchen können wir zeigen, daß dieselben auch auf ihrem heimischen Untergrund, so Fels- bzw. Schieferstückchen gedeihen können. Bei dem Zerfall der Gesteine kommt ihnen möglicherweise Bedeutung zu. Cladosporium herbarum gedeiht, wie Abb. 1 zeigt, auf Blättchen des Urgesteinsschiefer; Penicillium expansum formt auf Tonschiefern seine typischen Koremien, die Abb. 2 deutlich erkennen

läßt. Die Gruppe Monoverticillium ist, wie bereits frühere Untersuchungen zeigten, sehr häufig in Moorgebieten zu treffen. Unsere Untersuchungen lassen auch erkennen, daß an der Zusammensetzung des Flechtenkörpers typische Bodenpilze beteiligt sein können.

Diese Pilze finden sich auch in den Früchten und Samen der auf den betreffenden Böden wachsenden Pflanzen wieder. Weintrauben enthalten sie reichlich. Wir brachten nicht ganz ausgereiftes Material aus den französischen Weingärten mit, ferner untersuchten wir Proben des Handels. Fusarium oxysporum und Cladosporium herbarum sind sowohl im Fleische als auf der Schale der französischen Früchte zu finden.

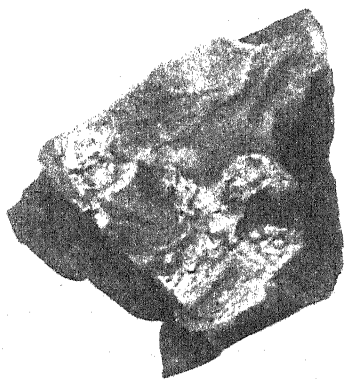



Abb. 1. Cladosporium herbarum auf Schieferplättchen.

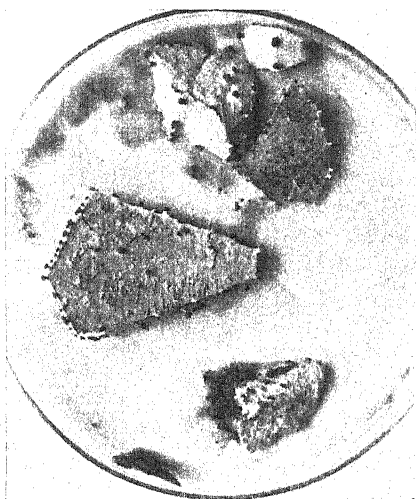



Abb. 2. Penicillium expansum auf Tonschiefer.

In den Proben des Handels erkannten wir außerdem noch Penicillium expansum und Dematium pullulans. In einer früheren Arbeit zeigten wir bereits, daß in der Schale und auch den Kleberzellen heimischer Gramineenfrüchte Pilzfäden vorhanden sind. Jetzt berichten wir über die Früchte, welche von den vorhin erwähnten Feldern des Sudetengaues stammen. Die mikroskopische Kontrolle an gefärbten Präparaten lehrt, daß in den Früchten des Roggens Cladosporium herbarum und Penicillium expansum vorhanden sind. In den Weizenkörnern erkannten wir Trichoderma Koningi sowie einzelne Fusarien. Es handelt sich um lauter bekannte Bodenpilze. Eine Ausnahme bildet der Haider Hartweizen 1937, in dessen Querzellen wir nach Färbung mit 0,1proz. Lösungen von Oxaminblau unter dem Mikroskope typisch ausgebildete Konidienträger von Aspergillus repens, der dort im Erdreich nicht vorkommt, erkennen. Abb. 3 gibt das typische Bild wieder.

Bestimmte Gruppen von Pilzen fallen durch gemeinsames Vorkommen auf. In der Kultur ist dann meist zu beobachten, daß eine Art dominiert und die anderen unterdrückt werden. Das Penicillium expansum überwuchert immer die es begleitenden Fusarien; dasselbe gilt für das

gemeinsame Vorkommen mit Cladosporium herbarum. Umgekehrt wird bei der gemeinsamen Entwicklung von Zygodesmus albus und Penicillium expansum letzteres überwuchert und zurückgedrängt, wie die Abb. 4 zeigt. In vielen Böden, desgleichen in der Kultur, herrscht Trichoderma Koningi vor, sie drängt die anderen Pilze zurück.

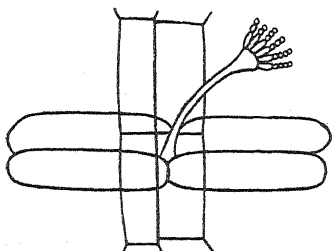



Abb. 3. Abb. 4.

Abb. 3. Längs- und Querzellen in einem Weizenkorn. Innerhalb derselben wuchert Aspergillus repens.

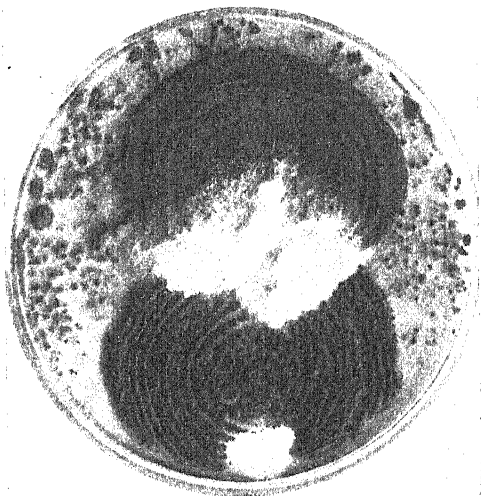



Abb. 4. Zygodesmus albus und Penicillium expansum, in gemeinsamer Kultur.

C. Wachstumsversuche unter Berücksichtigung des Wuchsstoffbedürfnisses.

Viele dem Erdreich entnommene Pilze entwickeln sich in Kultur schlecht; oft ermöglicht erst die Überführung auf bestimmte, den natürlichen Verhältnissen angepaßte Nährmedien ein gutes Wachstum; typische Entwicklung der Fortpflanzungsorgane ist meist erst hier möglich. Die isolierten Fusarien schreiten nur auf geschälten Kartoffeln zur Ausbildung typischer Wachstumsbilder und der Absonderung der charakteristischen Konidien. Die verschiedenen Vertreter der Gattung Cladosporium lehnen den üblichen Bierwürzeagar ab; ihre typische Entwicklung zeigen sie auf Getreidekörnern oder Filtrierpapier. Die Penicillien gedeihen gut auf den bereits früher von uns benutzten Nährgelatinen nach Sopp und Raulin. Starke Konidienbildung auf Bierwürzeagar unter Formung typischer Kolonien weist Trichoderma Koningi auf. In Zuckerlösungen mit den üblichen Nährsalzen gedeihen die typischen Bodenpilze sehr schlecht, die Bildung von Fortpflanzungsorganen unterbleibt. Filtriert man diese Lösungen in der von Bortels geübten Art, so hört das Wachstum nahezu vollständig auf.

Uns interessierte es nun zu verfolgen, ob auf wenig zusagenden Nährmedien normale Entwicklung und vor allem Konidienbildung bei typischen Bodenpilzen nach Zusatz bestimmter Substanzen, die man den Wuchs- oder Wirkstoffen (vgl. K. Rippel) zurechnen kann, möglich ist. Ferner wollen wir prüfen, welche Bedeutung in der Rich-

tung dem Zinksulfat zukommt. Bei der Bildung von Perithezien und Sklerotien können Wuchsstoffe desgleichen einen Einfluß ausüben; dabei ist zu bemerken, daß die dem Erdreich entnommenen Formen meist zu derselben neigen.

Die Kulturversuche erfolgen in Erlenmeyer-Kolben von 300 ccm Rauminhalt; jeder Kolben enthält 100 ccm Nährlösung. Stets wird mit 3 Parallelen gearbeitet. Die Grundnährlösung hat folgende Zusammensetzung:

Saccharose	10 %
Ammonsulfat	1 %
Saures Kaliumphosphat	0,1 %
Magnesiumsulfat	0,1 %

Diese Lösung wird nach den Vorschriften von Bortels über Tierkohle filtriert.

Bei der Auswahl der Zusätze, die als Wuchs- oder Wirkstoffe dienen sollen, richten wir uns nach den Erfahrungen der Literatur sowie den natürlichen Bedürfnissen der Pilze.

Versuchsserie 1. *Alternaria humicola* gedeiht auf den bekannten synthetischen Nährmedien sehr kümmerlich. Schwache Myzelbildung, ohne Absonderung von Konidien ist zu verfolgen. Kräftige Lager mit reichlicher Konidienbildung treten auf Getreidekörnern oder Filtrierpapier auf. In unserer Grundnährlösung bilden sich nur einzelne weiße Flocken, deren Wachstum submers erfolgt. Nachstehende Zusätze werden im Hinblick auf eine Verbesserung der Entwicklung gereicht und bezüglich ihrer Wirkung geprüft.

a) 0,1 g käuflicher Preßhefe wird in 100 ccm der nicht-filtrierten Grundnährlösung durch 48 Std. kultiviert. 1 ccm dieser verbrauchten Nährlösung wird mit 49 ccm destillierten Wassers versetzt und 30 Min. im Dampftopf sterilisiert. 1 ccm dieser Lösung wird gereicht. b) *Penicillium expansum* wird 14 Tage in der nicht-filtrierten Grundnährlösung gehalten. Zusatz wie unter a). c) Einzelne Stückchen des Embryo-Gewebes von Petkuser Roggen 1937 werden gereicht. d) Wie c, nur Jahrgang 1917. e) Wuchsstoffextrakte nach Dagys aus dem Embryo des Petkuser Roggens 1937. f) Wie e, nur Jahrgang 1917. g) 1 ccm eines Extraktes von Sproßtrieben lagernder Kartoffeln in Wasser. Der Extrakt wird nach den Vorschriften von Rippel gewonnen. h) In der gleichen Weise wird ein Extrakt aus geschälten Kartoffeln bereitet.

Eine Serie findet bei Zimmertemperatur, abgedunkelt und eine zweite im Brutschrank bei 30° Aufstellung. Im Vergleiche zu den sonst im Laboratorium heimischen Pilzen geht die Entwicklung sehr zögernd vor sich. a) In der zweiten Versuchswoche wird auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine geschlossene Decke geformt. Eine Woche später setzt, vom Rande beginnend, unter Dunkelfärbung die Konidienbildung ein. Die Reihen bei Zimmertemperatur und im Thermostaten sind übereinstimmend. b) Das Wachstum wird vollständig unterbunden. c) Innerhalb weniger Tage setzt kräftiges Myzelwachstum ein, nach 5 Tagen ist eine geschlossene Decke vorhanden. Konidienbildung tritt in der dritten Woche ein. Dies gilt für die Proben im Zimmer. Im Thermostaten wird weniger Myzel, hingegen mehr Konidienmaterial erzeugt. Auf der Oberfläche der Flüssigkeit fallen große schwarze Sklerotien auf. d) Übt den gleichen günstigen Einfluß aus, obgleich es sich um Embryonen handelt, die ihre Entwicklungsfähigkeit weitgehend eingebüßt haben. Unter e und f sind die gleichen Ergebnisse zu buchen wie bei c und d. Bei g und h ist keine Förderung zu verzeichnen. Der Temperaturunterschied ist bei c, d, e, f, g, h ohne Kreuzung.

Der erste Versuch zeigt bereits, daß durch den Zusatz geringer Mengen von Wirkstoffen Wachstum sowie Konidienbildung angeregt werden kann. Zusatz und Extrakt von Roggenkeimlingen wirkt sehr gut; in Übereinstimmung mit Dagys ist festzustellen, daß auch altes, abgelagertes Material wirksame Stoffe führt. Für die Gegenwart von Hemmungsstoffen sprechen die Beobachtungen an der Kulturflüssigkeit des *Penicilliums*.

Versuchsserie 2. *Fusarium dimerum* entwickelt in der Grundnährlösung einzelne submers wachsende Flocken. Wir reichen, wie unter Versuchs-

serie 1, die Zusätze a, b, e, f, h. i) stellt die verbrauchte Kulturflüssigkeit einer Torula allii dar; das Alter derselben beträgt 14 Tage, die Menge wird wie früher gewählt.

a) Bei Zimmertemperatur ist schlechte Entwicklung; Konidien- und Farbstoffbildung fehlen. Im Thermostaten werden feste Lager gebildet, welche sich nach 8 Tagen rosa färben; Konidien der bekannten Sichelform sind zu sehen. b) Unterbindet wieder die Entwicklung vollständig. e und f bedingen die Bildung fester Decken, die sich rosa verfärben und die typischen Konidien aufweisen; zwischen den Kulturen im Zimmer und denjenigen im thermostaten ist kein Unterschied. Unter h fällt die beste Ausbildung innerhalb weniger Tage, sowohl im Zimmer als im Brutschrank, auf. Die Rosafärbung tritt deutlich hervor. Der Zusatz unter i bleibt ohne Einfluß, nur sterile Sklerotien treten auf.

Diese Versuchsserie weist wieder auf deutliche Förderungen nach dem Zusatze bestimmter Wirkstoffe hin. Die nach Dagys hergestellten Embryonenextrakte sowie der Kartoffelsaft bewähren sich sehr gut.

Versuchsserie 3. Trichoderma Koningi entwickelt in der Grundnährlösung schwache, submers wachsende Flöckchen. Die Anordnung der Serien erfolgt nur bei Zimmertemperatur. Die Zusätze sind übereinstimmend mit Versuchsserie 2 gewählt.

a) Die Bildung glatter, geschlossener Decken tritt ein, Konidienbildung erfolgt nicht. b) Hier tritt keine Hemmung ein, entspricht a. e und f ermöglichen die Entwicklung flockiger, kugeliger Lager, die bald verschmelzen. Nach 12 Tagen nehmen die Kulturen eine schwache grüne Tönung an. Unter dem Mikroskop erkennt man die typischen hyalinen Konidien. h und i üben keinen Einfluß aus.

Man erkennt wieder ähnliche Förderung von Wachstum und Konidienbildung wie früher; auch die Farbstofferzeugung wird angeregt. Die Kulturflüssigkeit des Peniciliums übt hier keine Hemmung aus.

Versuchsserie 4. Cladosporium herbarum entwickelt in der Grundnährlösung desgleichen nur kümmerliche, submers wachsende Flöckchen. Hier werden die gleichen Zusätze wie in Versuchsserie 1 unter a, b, e, f, g und h gereicht. Entsprechend den Angaben in der Versuchsserie 1 b wird Trichoderma kultiviert und dann als Zusatz gereicht; die Serie wird mit k bezeichnet.

Der Besprechung der Versuchsergebnisse ist die Beobachtung vorauszuschicken, daß wir hier 2 Arten von Konidien kennen. Erstens kurze, gedrungene, von zitronenförmiger Gestalt. Zweitens lange, schmale, von stäbchenartiger Ausbildung.

a) Innerhalb von 10 Tagen wird eine kräftige Decke gebildet. Im mikroskopischen Bild sind reichlich Sproßzellen sowie Konidien der ersten Ausbildungsart zu erkennen. Bei b beobachtet man dünne, zu einer Decke zusammenfließende Lager. Unter dem Mikroskop sieht man Konidien der ersten und zweiten Ausbildungsart. Bei e und f werden derbe, wulstartige Lager von dunkler Färbung gebildet; die Entstehung erfolgt submers. An der Oberfläche erscheinen zahlreiche grünschwarze Sklerotien, welche steril bleiben. Konidien werden nur nach der ersten Art geformt. Bei g sehen wir schwarze, leistenartige Wülste. Mikroskopisch sind Konidien beider Typen feststellbar. Auf starke Sklerotienbildung ist hinzuweisen. Der unter h gereichte Zusatz bleibt ohne Einfluß. Bei i und k tritt die Bildung schwacher, heller Decken ein; die mikroskopische Kontrolle zeigt wenige Konidien der ersten Type. Stark ist auf der Oberfläche die Bildung von Sklerotien.

Diese Versuchsserie bringt Ergebnisse, die mit den bei den anderen Pilzformen ermittelten übereinstimmen.

Versuchsserie 5. Zufällige Beobachtungen hatten gelehrt, daß manche Vertreter der Fungi imperfecti, welche in synthetischer Kultur schlecht gedeihen, auf Orangen, sowohl dem Fruchtfleisch als den Schalen, gute Entwicklung und auch Fruktifikation zeigen. Hier ist zu studieren, welchen Einfluß geringe Mengen an natürlichem Orangensaft bei der Entwicklung von Cladosporium herbarum, Trichoderma Koningi und Fusarium dimerum ausüben können. Die Ergebnisse der Kontrollkulturen sind von früher bekannt. Der Grundlösung fügen wir 2 Tropfen eines frischen Orangensaftes hinzu. Trichoderma Koningi formt innerhalb von 8 Tagen feste Decken; nach weiteren 8 Tagen setzt vom Rande beginnend, in Form typischer grüner Ringe die Konidienbildung ein. Fusarium dimerum entwickelt flockige, nicht zusammenhängende Lager. Eine starke Förderung erfährt die Farbstoffbildung. Die mikroskopische Kontrolle zeigt

schwache Konidienbildung. Cladosporium herbarum formt dunkle, wulstartige Lager. In reichlicher Menge werden Konidien der ersten und zweiten Ausbildungsart geformt.

Dieses Beispiel zeigt, daß auch ein Fruchtsaft, in geringer Menge zugesetzt, als kräftiger Wirkstoff dienen kann.

Versuchsserie 6. Der Einfluß von Zinksulfat bei Cladosporium herbarum wird verfolgt. Eine 0,5proz. Lösung hemmt das Wachstum vollständig. 0,25proz. Lösungen sind desgleichen noch schädlich. 0,025proz. Lösungen bedingen die Ausbildung eines kräftigen Myzels und reichliche Absonderung von Konidien beider Typen. Noch günstiger ist eine 0,005proz. Dosis.

Der kleine Versuch zeigt, daß bei Cladosporium herbarum verdünnte Lösungen von Zinksulfat ähnlich wirken können wie die früher geprüften Wirkstoffe.

Unsere Versuche zeigen, daß bei vielen Bodenpilzen, die bis jetzt selten in Kulturlösungen gehalten wurden, die unterschiedlichsten, in geringer Menge gereichten Substanzen, die wir nach K. Rippel den Wuchsstoffen zuzählen wollen, eine Förderung der Entwicklung, Auslösung der Absonderung von Konidien und Bildung von Farbstoffen sowie Sklerotien bedingen können. Für das Wechselspiel zwischen Pilzen und Getreidekörnern im Erdreich ist das Ergebnis wichtig, daß besonders die nach Dagys aus den Roggen-Embryonen isolierten Wuchsstoffe sehr vorteilhaft sind. In vereinzelten Fällen können wir auch auf Hemmungsstoffe hinweisen; nach Rippel kommt denselben im Erdreich beträchtliche Bedeutung zu.

D. Zusammenfassung.

1. Im Gebiet der atlantischen Küste Frankreichs, in der Gebirgsregion des Gaues Tirol und im Ackerlande des Sudetengaues erkennen wir typische Bodenpilze.

2. Zwischen dem Boden und den Bestandspflanzen einerseits sowie den Pilzen andererseits bestehen bestimmte Wechselbeziehungen.

3. In der Kultur gedeihen die Pilze auf solchen Medien gut, die den natürlichen Verhältnissen entsprechen. Der Zusatz verschiedener Agentien, die wir zu den Wirkstoffen stellen können, bedingt in zuckerhaltigen Nährlösungen eine weitgehende Verbesserung des Wachstums und häufig erst die Möglichkeit für Konidienbildung.

Schrifttum.

Bortels, H., Biochem. Ztschr. Bd. 8. 1927. S. 341. — Dagys, J., Protoplasma. Bd. 24. 1935. S. 14 und Bd. 26. 1936. S. 20. — Elliott Bayliss, I. S., Ann. appl. Biol. Vol. 17. 1930. p. 284. — Niethammer, A., Die mikroskopischen Bodenpilze. 's Gravenhage 1937. — Niethammer, A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 65. — Rippel, K., Tatsachen und Gedanken zur Frage der Wuchshormone, dargestellt an Vicia Faba. Habilitationsschr. d. allgem. Fakult. d. techn. Hochschule München. 1938. — Wollenweber, H. und Reinking, O. A., Die Fusarien. Berlin 1935. — Zycha, H., Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Mucorineae. Leipzig 1935.

On the Production of Aethylenoxide-α, β-dicarboxylic Acid by Moulds (1).

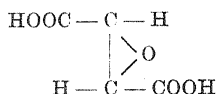
[The Agricultural Chemical Laboratory, Tokyo Imperial University.]

By **Kinichiro Sakaguchi, Tatuitiro Inoue** and **Seiji Tada.**

Aethylenoxide-*α*, *β*-dicarboxylic acid or "fumaryl- glycidic acid" was first synthetized by Lossen (2) from *β*-chlor- or brom-d-l-malic acid as its optically inactive form. Recently R. Kuhn and R. Zell (3) have succeeded to separate the inactive acid into active forms through its morphine salt.

The present authors have found two strains of moulds which form the acid in amounts corresponding roughly to 5—15% of the total sugar utilized, when the moulds are grown on a synthetic medium containing glucose as the sole source of carbon.

According to R. Kuhn and R. Zell (3) the acid, which has the properties as mentioned below, corresponds to the laevo-rotatory trans-form namely

```
HOOC — C — H
        | \
        |  > O
        | /
   H — C — COOH
```

Since the acid is easily converted into mesotartaric and d-tartaric acids by boiling its aqueous solution, an industrial process for the preparation of tartaric acid based on the use of those moulds, independent of the wine industry, might be established.

Experimental.

I. The organisms employed.

Monilia formosa nov. sp.

The organism was isolated by one of the authors (Sakaguchi) from a botanical specimen preserved in a dilute formaldehyde solution from Kagi, Formosa.

Colonies on Koji-extract-agar light yellowish brown passing to greyish yellow in age (Pale Olive Buff to Dark Olive Buff, Cream Buff, Cartridge Buff, Honey Yellow, Citrine Drab or Camois (4) according to media and age), forming rather closely felted aerial masses 3—5 mm deep especially in the center. Reverse almost white or with some shades of yellow or orange (Antimony Yellow, Zinc Orange or Isabella Colour). Conidia smooth, light yellowish, mostly elliptic or somewhat spindle shaped and ovate or subglobose partly, 4—7 μ × 1.5—4 μ or 4—5 μ in diameters. Conidiophores not sharply distinguished from the hyphae of the vegetative mycelium which is colourless, septate, 3—5 μ in diameters.

The optimum temperature for growth near 35° C. and the inhibition below 9—12° C. or above 47° C. Conidia are killed by heating at 62° C. for 30 minutes or at 65° C. for 5 minutes. The optimum hydrogen ion concentration at near pH 5.1—6.5.

It grows readily on ordinary culture media for moulds such as wort, Kojiextract, Czapeck's, Pfeffer's, Henneberg's, Hayduck's and Wöltje's solutions or the nitrite medium of Sakaguchi and Wang which is prepared by substituting natrium nitrite (2 gr. per litre) for natrium nitrate of the Czapeck's solution (5). Against formaldehyde it is resistant up to 7% and grow well at 0.5%. Amylase, invertase, maltase, protease, lipase, lab-enzyme, urease, emulsin, catalase and zymase are formed. As its metabolic products laevorotatory ethylenoxide-dicarboxylic, citric and fumaric acids as well as mannitol are found.

Penicillium viniferum nov. sp.

It was isolated from infected Concord grape juice. Colonies on Koji-extract agar from dark olive buff or deep olive buff to olive brown (Ridgway's Colour Standards), loosely felted, spreading over the whole substratum, about 1 mm deep, with reverse pale yellow and agar coloured dark purple in age; conidiophores 54—138 μ long by 5 μ, smooth walled and asymmetrically branched; branches 15—28 μ long, two or three at a node; metulae 14—15 μ by 3 μ with apices slightly enlarged, 2—3 in the group; sterigmata about 12—20 μ by 1.5—3 μ, in verticiles of about 3 to 4; conidia elliptical or rarely ovoid, 2—3 μ by 4—6 μ, smooth, conidial chains parallel not in columner masses. The vegetative hyphae, septate, 6—8 μ in diameters.

The optimum temperature for the growth 32—34° C. and the inhibition below 12° C. or above 44° C.; the optimum pH 4.4—6.9. It grows well on common culture media for moulds. Amylase, emulsin, proteinase (pepsin type), peptidase (erepsin type), lab-enzyme, lipase and catalase are found. It ferments starch, glycogen, dextrin, raffinose, saccharose, maltose, lactose, glucose, fructose, mannose and galactose.

II. Isolation of the acid.

The culture medium used was the solution containing 10% of glucose: Water to 1000 c.c.; glucose 100 g; peptone 5 g; KH_2PO_4 0.2 g; K_2HPO_4 0.2 g; $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0.1 g; $CaCO_3$ 5—10 g; traces of NaCl and $FeCl_3$. The medium, being sterilized in conical flasks, was sown with the spores from the culture of the mould on Koji-extract agar slopes and incubated at 28—33° C. for 15—20 days.

At the end of the incubation period, the metabolism solution, after removal of the mycelium and the residual $CaCO_3$, is concentrated in vacuo at a temperature as low as possible, otherwise the acid may partly be hydrolized. The concentrate is then carefully acidified with sulfuric acid and extracted with ether. The residue of the etherial extract is dissolved in water and neutralized with $Ba(OH)_2$, the acid being precipitated almost quantitatively as its barium salt.

The mercurous salt of the acid which is formed by adding the aqueous solution of mercurous nitrate, being insoluble in 5% nitric acid, can also be employed for the isolation of the acid. The mercurous salts of the other organic acids are all soluble in aqueous 5% nitric acid solution except that of fumaric acid. The mercurous salts of fumaric and fumaryl-glycidic acids may be separated each other by treating with 8% nitric acid solution into which the latter dissolves readily while the former remaining almost insoluble.

III. Properties of the acid.

The acid is colourless hexagonal plates, melting at 179—180° C. (corr.) with a slight decomposition (M. P. 180° C. Kuhn and Zell). It is easily soluble in water, ethyl alcohol, aceton and ether but difficulty in benzene or petroleum ether. The acid does not reduce Fehling's solution or ammoniacal silver nitrate and has no other aldehydic or ketonic properties.

It resembles d-tartaric acid in various characteristics but differs from the latter against Fenton's (9) and Fürth and Hermann's (10) reactions. The colour reactions with the acid are compared with d-tartaric acid in the following:

Reagents applied	The isolated acid	d-tartaric acid
Resorcin + H_2SO_4 at 130° C. . . . . . . [Mohler (6)]	intense red	,, ,,
β-naphthol + H_2SO_4 . . . . [Takahashi and Sakaguchi (7)]	bluish green	,, ,,
$CuSO_4$ + H_2SO_4 + Thiophen . . . . . . [Fletcher and Hopkins (8)]	reddish brown	,, ,,
$FeSO_4$ + H_2O_2 + NaOH . . . . [Fenton (9)]	negative	dark violet
Pyridine + Acetic anhydride . . . . . . [Fürth and Hermann (10)]	green colour after 15 min.	green colour immediately

The following determinations were made:

Elementary analysis (by Mr. Funabashi):

Substance	CO_2	H_2O	C%	H%
3.701 mg	4.935	0.980	36.37	2.96
3.448 mg	4.590	0.965	36.31	3.13
Calc. for $C_4H_4O_5$ (M. W. 132.03)			36.28	3.06

Titration:

Substance	N/10 NaOH required	Calc. as a dibasic acid $C_4H_4O_5$
0.0980 g	14.83 c.c.	14.85 c.c.
0.1020 g	15.51 c.c.	15.45 c.c.

Molecular weight; 128 and 130 by Rast's Method (11), 132 from the titration number calculated as a dibasic acid.

Specific rotatory power:

$$[\alpha]_D^{20^0} = -100^0 \cdot 6 \qquad \text{where } C = 10,\ \alpha = 10^0 \cdot 06.$$

Barium salt dried at 105° C:

Substance	$BaSO_4$	Ba%
0.1110 g	0.0817	43.33
Calc. for $BaC_4H_2O_5 + 3\ H_2O$		42.75

Calsium salt dried at 105° C.:

Substance	$CaSO_4$	Ca%
0.2033 g	0.1325 g	19.16
Calc. for $CaC_4H_2O_5 + 2\ H_2O$		19.17

By the addition of hydrochloric acid in etherial solution, the laevorotatory monochlor-malic acid is obtained, which melts at 165—166° C. (uncorr.) with a partial decomposition (M. P. 165—166° C., Kuhn and Zell), the sepcific rotatory power, using 1% acetic ether solution, being $[\alpha]_D^{18}$ — 31.5° (— 31.1° Kuhn and Zell). Its chlorine content was determined by Volhard's method in the following:

Substance	Cl	Cl%
0.0572 g	0.0121 g	21.15
Calcul.		21.15

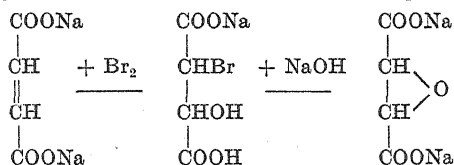
The acid is also easily hydrolysed to inactive mesotartaric acid and partly to d-tartaric acid by boiling its aqueous solution. 4.5 g of the acid was dissolved in 100 c.c. of water and was kept in boiling under reflex-con-

densor. After 40 hours, the specific rotation of the solution, which at first was —100°, was proved to be near zero, and further boiling for 25 hours did not cause any change in rotation. By the treatment with potassium hydroxide and uranylnitrate as shown by Walden (12), the specific rotatory power of the solution became to + 28.67° (α = + 0.43°, C = 0.75, 1 = 2, t = 20° C.), which shows the formation of d-tartaric acid to the extent of about 9.45% of the total acid hydrolysed. The hydrolysed acid, from which d-tartaric acid is separated as potassium bitartarate, is vesy deliquescent and crystallizes in rectangular plates, only on long standing over sulfuric acid. It melts at 140° C. and a mixed melting point with a synthetic mesotartaric acid shows no depression. 0.1139 g required 15.03 c.c. of N/10 NaOH for neutralization to phenolphthalein, theoretical for mesotartaric acid $C_4H_6O_6$ being 15.08 c.c. Barium content of the barium salt dried at 170° C. is as follows.

Substance	$BaSO_4$	Ba%
0.3597 g	0.2914 g	47.68
Calcul.		48.05

IV. The synthesis of the acid.

The acid was synthetized from maleic acid by conversion into monobrom malic acid followed by debromination and dehydration (13); the resultant d-l-acid being separated into active forms through its morphin salt (3).

```
COONa              COONa              COONa
|                  |                  |
CH     + Br2       CHBr   + NaOH      CH\
||     ------      |      ------      |  >O
CH                 CHOH               CH/
|                  |                  |
COONa              COOH               COONa
```

The synthetized acid melted at 180—181° C. (uncorr.), the specific rotation, using 0.506% aqueous solution, being $[\alpha]_D^{17}$ —100°.

The elementary analysis gave:

Substance	CO_2	H_2O	C%	H%
3.097 mg	4.186 mg	0.960 mg	36.86	3.46
3.290 mg	4.482 mg	1.030 mg	37.08	3.50
	Average		36.97	3.48
	Calcul.		36.82	3.06

Direct comparison of it with the acid obtained from the metabolism solutions of the moulds showed that they are the same substance. A mixed melting point did not show any depression.

V. The formation of fumarylglycidic acid from various carbon sources.

The culture media used were the solutions containing from 5 to 10% of various carbon sources: Water to 1000 c.c.; $NaNO_3$, 3 g or peptone, 10 g; KH_2PO_4, 0.2; K_2HPO_4, 0.2; $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$, 0.1; $FeCl_3$ and NaCl traces; $CaCO_3$, 10 g. From 200 c.c. to 500 c.c. of the above media are inoculated with Monilia formosa and incubated at 35° C. At the end of the incubation period, the fumarylglycidic acid formed, being extracted with ether or precipitated as its mercurous salt, was estimated by measuring the optical rotation of its aqueous solution.

C-comp.s	N-sourses	Incu-bation periods	C-sources consumed	The weight of the moulds (dry matter)	Fumarylglycidic acid	
					produced	yields (against C-sources consumed)
		days	g	g	g	%
Sucrose (10%) .	$NaNO_3$	32	40.2	5.7	1.95	4.5
Glucose (8.4%) .	,,	21	38.0	5.8	3.47	9.2
Laevulose (10%)	,,	26	35.0	5.5	0.67	1.9
Mannitol (5%) .	,,	31	—	5.6	1.65	—
Sorbitol (4.5%) .	Peptone	23	—	1.7	0.25	—
Arabinose (4.4%).	,,	20	8.8	1.7	0.23	2.6
Xylose (4.5%) .	,,	20	8.9	1.4	0.20	2.2
Erithritol (4.5%).	,,	23	—	1.7	0.29	—
2 · 3 · butylenglycol (5%)	,,	23	—	1.4	0.20	—
Glycerol (4.3%) .	$NaNO_3$	22	27.0	7.1	1.56	5.8
[1]) Ca-acetate (0.4 Mol) . . .	none	11	—	—	0.112	—
[1]) Ethylalcohol (3%)	,,	15	—	—	0.30	—

[1]) The so called "Decken" or fully developed mould masses were employed.

VI. The other metabolic products.

Beside fumarylglycidic acid, several other organic acids and mannitol were also produced in various amounts, namely citric, succinic and fumaric acids and mannitol by Monilia formosa, and citric acid by Penicillium viniferum.

Fumaric acid: difficultly soluble in water, M. P. (closed tube) 286° C. (uncorr.) no depression with the authentic sample.

Succinic acid: Pyrrol reaction positive, M. P. 183° C. (uncorr.) and no depression with the authentic sample. Titration; substance 0.0667 g, N/10 NaOH required 11.36 c.c. (Calc. 11.30 c.c.). Ag-salt; substance 0.0779 g, Ag 0.0505 g, Ag 64.83 (Calc. 65.03%).

Citric acid: It gave Denige's and Stahr's reactions and melted at 153° C. (uncorr.). Titration; sample 0.1204 g, N/10 NaOH required 18.79 c.c. (Calc. 18.80 c.c.). Ca-salt; sample 0.1140 g (dried at 120° C.), $CaSO_4$ 0.0833 g, Ca 22.19%, 22.06 % calc. as $(C_6H_5O_7)_2Ca_3 \cdot 2\,H_2O$.

Mannitol: It was obtained as colourless needles from 80% hot alcoholic solution. It melts at 165—166° C. (uncorr.) and does not show any depression with an authentic sample. Tribenzalmannitol which was obtained by treating with benzaldehyde and phosphoric acid anhydride, melted at 217° C. (uncorr.).

Summary.

Two species of moulds, Monilia formosa nov. sp. and Penicillium viniferum nov. sp., were described which form aethylenoxide-α, β-dicarboxylic acid or "fumaryl-glycidic acid" as their main metabolic products.

The acid was produced from sucrose, fructose, glucose, mannitol, sorbitol, arabinose, xylose, erythritol, 2 · 3 · butylenglycol, glycerol, acetic acid as well as ethyl alcohol.

Finally the authors wish to express their sincere thanks to Prof. Dr. Teizo Takahashi for the encouragement given them, and to acknowledge the help rendered by a grant from the Research Fund of the Imperial Academy.

References.

1. A preliminary report by the authors: Proceedings of the Imperial Academy. Vol. 13. 1937. No. 1. p. 9. — 2. Lossen, W., Ann. 348. 1906. p. 273. — 3. Kuhn, R., and Zell, R., Ber. 59. 1937. p. 2514. — 4. Ridgway: Colour Standards. Washington 1912. — 5. The medium can be employed not only for maintaining pure cultures but also for determining the identity of some moulds or isolating certain narrow groups. Sakaguchi, K., and Wang, Y., Journ. Agric. Chem. Soc. Japan. Vol. 11. 1935. p. 39. — 6. Mohler, Bull. Chem. (3). 4. 728. — 7. Takahashi, T., and Sakaguchi, Bull. Agr. Chem. Soc. Japan. 2. 97. — 8. Fletcher and Hopkins, Journ. of Physiol. Vol. 35. 1907. p. 247. — 9. Fenton, Ztschr. f. anal. Chem. Bd. 21. 1882. S. 123. — 10. Fürth, O. und Hermann, H., Biochem. Ztschr. Bd. 280. Heft 56. 1935. — 11. Rast, Ber. 55. 1923. S. 1051. — 12. Walden, Ber. 30. 1923. S. 2889. — 13. Kuhn, R. und Ebel, F., Ber. 58. 1925. S. 919.

Anorganische Substanzen als Desinfektionsmittel gegen Schimmelpilze.

[Aus dem Institut für landwirtschaftliche Technologie der Universität Poznań in Polen.]

Von **Tadeusz Chrząszcz** und **Jan Kasznica.**

Die Beurteilung eines desinfizierenden Stoffes hängt nicht nur von seiner Wirksamkeit ab, sondern auch davon, auf welche Weise dessen antiseptische Wirkung, d. h. die Abtötung des Schädlings festgestellt wird. Gewöhnlich prüft man die Wirksamkeit desinfizierender Mittel an Coli- bzw. Typhusbakterien und in dieser Richtung besitzen wir eine reichlich gut ausgebaute und festgelegte Untersuchungstechnik. Man geht dabei von der Voraussetzung aus, daß Mittel, die hinreichend energisch auf Bakterien wirken, gleichfalls gute Antiseptika gegen alle anderen Mikroorganismen sind. Diese Ansicht ist jedoch nicht zutreffend. Aus den Untersuchungen von H. Friedenthal[1]), F. Moll[2]), C. Wehmer[3]), H. Schnegg und R. Schnegg[4]) und anderer Forscher geht nämlich hervor, daß gewisse Schimmelpilze, besonders der Gattungen Penicillium und Aspergillus, gegen die Wirkung verschiedener chemischer Substanzen widerstandsfähiger sind und auch größere Dosen antiseptischer Stoffe vertragen als viele Bakterien.

Die Wirkung einer chemischen Substanz in Lösung (Antiseptikums) auf die Mikroorganismen kann dreierleiart sein[5]):

---

1) Friedenthal, H., Biochem. Ztschr. Bd. 94. 1919. S. 47.
2) Moll, F., Zentralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. 51. 1919. S. 257.
3) Wehmer, C., Chemiker-Ztg. 1916. S. 14.
4) Schnegg, H., und Schnegg, R., Ztschr. f. das ges. Brauw. Bd. 53. 1930. S. 173.
5) Sabalitschka, T., Archiv d. Pharm. u. Dtsch.-Pharm. Ges. H. 4. 1929; Traube, J., Biochem. Ztschr. Bd. 98. 1919. S. 177; Finger, F., Diss. Berlin 1928; Nekrassow, B., Ztschr. f. phys. Chem. Bd. 136. 1929. S. 379, u. andere.

1. Die chemische Substanz kann durch Niederschlagen des Stoffes an der Oberfläche der Zelle wirken.

2. Sie kann in das Zellinnere eindringen und auf das Plasma tödlich wirken.

3. Sie kann schließlich zeitweise oder dauernd physikalische oder chemische Veränderungen der Zellbestandteile bewirken.

Bei der Prüfung einer antiseptischen Substanz wird nach deren Einwirkung auf den Mikroorganismus dieser auf einen Nährboden übertragen, um festzustellen, ob er schon abgetötet oder noch entwicklungsfähig ist. Wenn man derartig mit den Schimmelpilzen verfährt und deren Myzel bzw. Sporen überträgt, dann ist je nach ihrer Übertragung auf flüssigen oder festen Nährboden die zur Abtötung nötige Menge der chemischen Stoffe mitunter sehr verschieden[1]).

Dieses eigenartige Verhalten der Schimmelpilze, desgleichen fehlende systematische Untersuchungen über die antiseptische Wirkung chemischer Substanzen auf Schimmelpilze regten uns zu den nachstehend angeführten Untersuchungen an.

Experimenteller Teil.

Zu den Untersuchungen wurde eine Reihe häufig anzutreffender Schimmelpilze verwendet: Penicillium glaucum, Cladosporium herbarium, Rhizopus nigricans, Dematium pullulans, Oidium lactis, Mucor mucedo, Botrytis cinerea, außerdem der stark säuernde, in der Industrie Anwendung findende Aspergillus niger Nr. 80. Jeder dieser Schimmelpilze wurde getrennt auf 8proz. Malzwürze gezüchtet; sein Myzel wurde sodann ausgewaschen und im Faust-Heim-Apparat bei 35° C getrocknet, pulverisiert und darauf alle diese Schimmelpilze vermengt. Auf diese Weise wurde ein Gemisch von 8 Pilzarten erhalten, auf das dann verschiedenartige chemische Substanzen einwirkten.

Chemische Stoffe. Zur Untersuchung wurden 69 anorganische Substanzen sowie Gemische derselben verwendet, die in den Tabellen angegeben sind. Die Substanzen wurden in Wasser bzw. in Malzwürze in der für die betreffende Konzentration erforderlichen Menge gelöst, worauf zu diesen Lösungen das Schimmelpilzgemisch zugegeben wurde.

Einwirkungszeit. Obwohl neuere Untersuchungen eine nur 2 Min. währende Einwirkung des Antiseptikums anempfehlen, hielten wir es wegen der großen Widerstandsfähigkeit der Schimmelpilze gegen chemische Stoffe für richtiger, längere Einwirkungszeiten anzuwenden. Unser Schimmelpilzgemisch beließen wir daher in den antiseptischen Lösungen verschieden lange Zeiten, und zwar: 10 Min., 60 Min. und 2 Wochen.

Einwirkungstemperatur. Die Wirkung chemischer Substanzen auf Schimmelpilze wurde bei 18 und 50° C untersucht.

Nährboden. Sehr wichtig für die Feststellung, wie der desinfizierende Stoff wirkt, ist die Güte des Nährbodens, auf den die Organismen nach der Einwirkung des Antiseptikums übertragen werden, um zu prüfen, ob sie noch entwicklungsfähig sind. Nach Versuchen mit Malzwürze, Milch, Molke und Obstsaft allein oder mit Gelatinezusatz, ferner mit Käse und Kreideplatten als festem Nährboden wurde als bequemer und für Schimmelpilze gut geeigneter Nährboden 8proz. Malzwürze (sowohl flüssig

---

[1]) Chrząszcz, T., und Schillak, R., Związek Gosp. Spółdz. Mleczarskich. Poznań 1936. S. 18; Chrząszcz, T., und Kasznica, J., Ibid. Poznań 1937. S. 27.

wie auch mit 14% Gelatinezusatz) als fester Nährboden gewählt[1]). Nach der Einwirkung der chemischen Stoffe wurden die Schimmelpilze auf diesen Nährboden übergeimpft und 2 Wochen lang belassen. Wenn in dieser Zeit keinerlei Myzelentwicklung beobachtet wurde, konnte angenommen werden, daß die Pilze durch die gegebene Konzentration der chemischen Stoffe abgetötet waren.

Untersuchungsverlauf. In einer Reihe von Reagenzgläsern mit dest. Wasser oder Malzwürze wurden der Reihe nach prozentuell zunehmende Mengen der chemischen Substanzen und außerdem ein großer Überschuß des pulverisierten, in geringer Wassermenge verrührten Schimmelpilzgemisches (2 Tropfen) zugesetzt. Der Inhalt jedes Reagenzgläschens wurde schnell vermischt und eine entsprechende Zeit lang in der gewünschten Temperatur gehalten. Darauf wurden aus diesen Reagenzgläschen je 2 große Ösen mit der die Schimmelpilze enthaltenden Flüssigkeit entnommen, worauf eine Öse auf flüssigen, die andere auf festen Nährboden übergeimpft wurde. Die beimpften Nährböden wurden in einer Temperatur von 20° C gehalten und 2 Wochen lang beobachtet, ob eine Schimmelpilz-Entwicklung eintritt. Nach diesen ersten Bestimmungen, deren Zweck war, sich über die antiseptische Kraft der untersuchten, chemischen Stoffe zu orientieren, wurden weitere Untersuchungen mit einer größeren oder geringeren Menge des Antiseptikums in engeren Grenzen je nachdem, wie die Orientierungsproben ausgefallen waren, ausgeführt. Auf diese Weise weiter verfahrend, wurde die prozentuelle Menge der untersuchten chemischen Substanzen festgestellt, die zur Abtötung der Schimmelpilze in obigen Verhältnissen nötig war. Wenn nach 2 Wochen sich auf dem beimpften Nährboden keinerlei Schimmelpilz-Entwicklung feststellen ließ, wurde angenommen, daß die zugesetzte, in Prozenten ausgedrückte Menge der chemischen Substanz dauernd alle Schimmelpilze abtötet.

Bei der Bestimmung der antiseptischen Wirkung bei 50° C wurde zunächst auf diese Temperatur ein Reagenzgläschen mit dem in Wasser gelösten Antiseptikum erwärmt, worauf das Schimmelpilzgemisch zugefügt wurde und nach Vermischung des Reagenzgläschen-Inhaltes dieses in ein Wasserbad von 50° C gestellt und die erforderliche Zeit lang dort gehalten. Darauf wurde, wie bei den Untersuchungen bei 18° C verfahren. Es wurde auch der dauernde Einfluß der desinfizierenden Mittel auf Schimmelpilze untersucht, die sich in Malzwürze 2 Wochen lang befanden.

Die Untersuchungsergebnisse sind in 2 Reihen von Tabellen zusammengestellt. In Tab. 1—3 geben wir bei jedem Antiseptikum je 2 Zahlen an. Von diesen bringt die höhere die prozentuelle Menge der chemischen Substanz, die unter den gegebenen Bedingungen die untersuchten Schimmelpilze abtötet. Die zweite Zahl zeigt im Verein mit der vorhergehenden an, in welchen Grenzen die betreffende antiseptische Substanz der Menge nach untersucht war.

Außerdem ist in den Tab. 1 und 2 die Schimmelpilz-Entwicklung auf flüssigem bzw. festem Nährboden angegeben, wobei bei der entsprechenden Gabe der chemischen Substanz durch das Zeichen „—" eine fehlende Schimmelpilz-Entwicklung, durch „+" eine schwache Entwicklung ohne Sporenbildung, durch „++" eine kräftige Entwicklung ohne Sporenbildung, schließlich durch „+++" eine Schimmelpilz-Entwicklung mit Sporenbildung ausgedrückt werden soll.

Da die angeführten Ergebnisse kein klares Bild des gegenseitigen, antiseptischen Wertes der einzelnen Substanzen bringen, wurden sie nach dem Vorschlag von Riedel und Walker im Verhältnis zum Phenol eingereiht, dessen wirksamer, antiseptischer Wert als 100 angenommen wurde. Diese Zusammenstellungen bringen wir in den Tab. 4—8 und führen dabei die untersuchten Substanzen nach ihrer antiseptischen Wirksamkeit an, wobei die in dieser Hinsicht kräftigsten auch den höchsten zahlenmäßigen Wert zeigen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen stellen sich folgendermaßen dar:

---

[1]) Chrząszcz, T., i Zakomorny, M., Biochem. Ztschr. Bd. 291. 1937. S. 312; Przemysł Chemiczny. Bd. 22. 1938. S. 296.

Tab. 1. Antiseptische Wirkung anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze in Wasser bei 18° C, die darauf auf flüssigen bzw. festen Nährboden übergeimpft wurden.

	Weiterzüchtung auf flüssigem Nährboden					Weiterzüchtung auf festem Nährboden				
	Bei einer Wirkung von 10 Min. tötet die Schimmelpilze ab		60 Min.		Schimmelpilzentwicklung	Bei einer Wirkung von 10 Min. tötet die Schimmelpilze ab		60 Min.		Schimmelpilzentwicklung
	%	Dose %	%	Dose %		%	Dose %	%	Dose %	
Phenol chem. rein	1,2	1,3	1,2	1,25	—	1,2	1,3	1,20	1,25	—
Salzsäure	9,0	10,0	9,0	10,0	—	24,0	25,0	14,0	16,0	—
Schwefelsäure	5,5	6,0	3,0	3,5	+	24,0	25,0	19,0	20,0	+
Salpetersäure	3,6	3,8	3,0	3,2	—	3,6	3,8	3,0	3,2	—
Borsäure	unwirksam				++	unwirksam				++
Arsensäure	2,5	3,0	2,5	3,0	+	10,0	11,0	3,5	4,0	+
Arsenige Säure	2,0	2,5	2,0	2,5	+	3,0	3,5	2,0	2,5	+
Kieselfluorwasserstoffsäure	0,4	0,5	0,2	0,35	—	10,0	11,0	4,0	4,5	—
Saures fluorsaures Ammonium	8,0	9,0	5,0	6,0	+	bis 15% unwirksam				—
Kaliumfluorid	0,3	0,5	0,3	0,5	—	1,5	2,0	1,5	2,0	—
Montaninfluat „K“	0,7	0,8	0,7	0,8	—	6,5	7,0	6,0	6,5	—
Pyricit	0,8	1,0	0,4	0,5	—	1,5	2,0	0,8	1,0	—
Natriumhydroxyd chem. rein	1,9	2,0	1,6	1,7	—	2,4	2,6	2,0	2,2	—
Natriumhydroxyd techn.	2,0	2,2	1,7	1,8	—	2,6	2,8	2,0	2,2	—
Natriumkarbonat kryst. (Soda)	bis 20% unwirksam				+++	bis 20% unwirksam				+++
Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	bis 30% unwirksam				++	bis 30% unwirksam				++
Kalziumhydroxyd + NaOH 1 : 1	3,0	3,5	2,3	2,5	+	3,5	4,0	2,0	3,0	+
Dinatriumphosphat	bis 12% unwirksam				++	bis 12% unwirksam				++
Trinatriumphosphat	bis 18% unwirksam				++	bis 20% unwirksam				++
Triammoniumphosphat	b. 15% unwirksam		14,0	15,0	++	bis 15% unwirksam				++
Ortho- und Metanatriumsilikat 10%	bis 10% unwirksam				++	bis 10% unwirksam				++
Chlorkalk 37% Cl	0,05	0,1	0,05	0,1	—	0,05	0,1	0,05	0,1	—
Chlorkalk 34% Cl	0,15	0,2	0,05	0,1	—	0,15	0,2	0,05	0,1	—
Chlorkalk 32% Cl	0,15	0,2	0,1	0,15	—	0,15	0,2	0,05	0,15	—
Chlorkalk 20% Cl	0,3	0,4	0,25	0,35	—	0,3	0,4	0,15	0,2	—
Chlorkalk 12% Cl	4,0	5,0	4,0	4,5	—	4,5	5,0	4,0	4,5	—
Chlorkalk 3% Cl	bis 20% unwirksam				+	bis 20% unwirksam				+
Caporit	0,3	0,05	0,01	0,03	—	0,03	0,05	0,01	0,03	—
Magnocid	0,4	0,45	0,2	0,25	—	0,4	0,5	0,2	0,3	—
Natriumhypochlorit 25° Bé	0,7	0,8	0,5	0,6	—	0,7	0,8	0,4	0,6	—

Antiformin	3,1	3,3	0,6	0,7	—	3,4	3,5	0,5	0,7	—
Mota	2,0	3,0	0,75	1,0	+	5,0	6,0	0,75	1,0	+
Alfa Asterin	2,0	3,0	2,0	3,0	+	5,0	6,0	2,0	3,0	+
Vitosan	2,4	2,7	1,2	1,5	—	3,0	3,3	1,8	2,1	—
Kaliumperchlorat 1,8%	unwirksam				+++	unwirksam				+++
Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	6,0	7,0	4,0	5,0	++	6,0	7,0	5,0	6,0	++
Kaliumperchlorat + HCl 1 : 1	4,0	5,0	4,0	5,0	++	12,0	14,0	12,0	14,0	++
Wasserstoffsuperoxyd 30%	0,4	0,5	0,2	0,25	—	1,4	1,45	1,4	1,45	—
Kaliumpermanganat chem. rein	2,1	2,2	1,9	2,0	—	2,3	2,5	2,1	2,2	—
Kaliumpermanganat techn.	2,5	2,6	2,3	2,4	—	2,6	2,8	2,3	2,5	—
Kaliumpermanganat + NaOH tech. 1 : 1	0,4	0,5	0,2	0,25	—	0,4	0,5	0,2	0,25	—
Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	0,6	0,8	0,4	0,5	—	0,7	0,95	0,4	0,6	—
Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	1,3	1,5	0,6	0,75	—	1,4	1,5	0,6	0,8	—
Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	3,5	4,0	3,0	3,5	—	11,0	12,0	8,0	9,0	—
Chromsäure	0,15	0,2	0,15	0,2	—	0,7	0,75	0,45	0,5	—
Kaliumchromat	0,3	0,4	0,2	0,25	—	4,4	4,5	4,4	4,5	—
Kaliumbichromat	0,2	0,3	0,15	0,2	—	4,1	4,2	3,9	4,0	—
Natriumnitrit	0,3	0,5	0,1	0,3	—	10,0	12,0	4,0	4,5	—
Schweflige Säure	0,3	0,5	0,3	0,4	—	0,5	0,7	0,3	0,4	—
Natriumbisulfit	0,8	0,9	0,6	0,7	—	1,0	1,1	0,8	0,9	—
Kalziumbisulfit	1,6	1,8	1,2	1,4	—	1,3	1,8	1,3	1,6	—
Natriummetabisulfit	0,7	0,9	0,1	0,2	—	1,1	1,2	0,3	0,4	—
Natriumthiosulfat	bis 15% unwirksam				+++	bis 15% unwirksam				+++
Chlornatrium	bis 37% unwirksam				+++	bis 37% unwirksam				+++
Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	bis 12% unwirksam				+++	b. 16% unwirksam		b. 12% unwirksam		+++
Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	b. 14% unwirksam		5,0	6,0	+++	14,0	16,0	7,0	9,0	+++
Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4	bis 1,3% unwirksam				++	bis 1,3% unwirksam				++
Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	bis 1,25% unwirksam				++	bis 1,25% unwirksam				++
Antimontrichlorid	bis 15% unwirksam				—	bis 15% unwirksam				—
Zinnchlorür	10,0	12,0	8,0	9,0	+	bis 15% unwirksam				+
Zinkchlorid	8,0	9,0	8,0	9,0	—	bis 15% unwirksam				+
Quecksilberchlorid (Sublimat)	0,02	0,03	0,01	0,015	—	0,02	0,03	0,01	0,015	—
Natriumnitrat	bis 20% unwirksam				+++	bis 20% unwirksam				+++
Natriumnitrat + NaCl 1 : 1	bis 40% unwirksam				+++	bis 40% unwirksam				+++
Kaliumnitrat	bis 20% unwirksam				+++	bis 20% unwirksam				+++
Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	bis 40% unwirksam				+++	bis 40% unwirksam				+++
Bleinitrat	8,0	9,0	8,0	10,0	—	bis 15% unwirksam				+++
Kupfersulfat (Kupfervitriol)	3,5	3,6	2,9	3,0	+	bis 20% unwirksam				+++
Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	8,5	10,0	6,0	7,0	+	9,0	10,0	8,0	8,5	+
Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1:1	bis 10% unwirksam				+++	bis 10% unwirksam				+++

Tab. 2. *Antiseptische Wirkung* anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze in Wasser bei 50° C, die darauf auf flüssigen bzw. festen Nährboden übergeimpft wurden.

	Weiterzüchtung auf flüssigem Nährboden				Weiterzüchtung auf festem Nährboden			
	Bei einer Wirkung von 10 Min. tötet die Schimmelpilze ab		Bei einer Wirkung von 60 Min. tötet die Schimmelpilze ab		Bei einer Wirkung von 10 Min. tötet die Schimmelpilze ab		Bei einer Wirkung von 60 Min. tötet die Schimmelpilze ab	
	%	Dose %	%	Dose %	%	Dose %	%	Dose %
Phenol chem. rein	0,40	0,45	0,30	0,35	0,4	0,5	0,3	0,4
Salzsäure	4,10	5,00	1,60	2,50	5,0	6,0	1,6	2,5
Schwefelsäure	4,70	5,20	1,0	1,2	4,7	5,2	1,0	1,2
Salpetersäure	1,2	1,3	0,4	0,5	1,2	1,3	0,4	0,5
Borsäure	1,0	1,2	0,1	0,2	0,7	1,0	0,1	0,2
Arsensäure	1,4	1,6	0,7	1,0	2,8	3,0	2,4	2,6
Arsenige Säure	0,8	0,9	0,4	0,6	0,9	1,0	0,6	0,7
Kieselfluorwasserstoffsäure	0,15	0,2	0,05	0,1	0,6	0,9	0,3	0,6
Saures fluorsaures Ammonium	1,3	1,6	1,0	1,3	1,3	1,6	1,3	1,6
Kaliumfluorid	0,07	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1	0,05	0,1
Montaninfluat „K“	0,1	0,15	0,1	0,15	0,7	0,8	0,2	0,3
Pyricit	0,3	0,5	0,25	0,3	0,8	1,0	0,4	0,5
Natriumhydroxyd chem. rein	0,4	0,5	0,3	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4
Natriumhydroxyd techn.	0,7	0,8	0,5	0,65	0,8	1,0	0,6	0,65
Natriumkarbonat kryst. (Soda)	16,0	19,0	9,0	12,0	bis 30% unwirksam			
Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	2,5	3,0	2,0	2,5	10,0	11,0	4,5	5,0
Kalziumhydroxyd + NaOH 1 : 1	1,2	1,6	1,0	1,2	2,0	2,4	1,6	2,0
Dinatriumphosphat	11,0	12,0	11,0	12,0	11,0	12,0	11,0	12,0
Trinatriumphosphat	16,00	18,0	8,0	10,0	bis 20% unwirksam		14,0	16,0
Triammoniumphosphat	1,0	3,0	0,5	1,0	1,0	3,0	1,0	3,0
Ortho- und Metanatriumsilikat	bis 10% unwirksam				bis 10% unwirksam			
Chlorkalk 37% Cl	0,005	0,01	0,004	0,005	0,005	0,01	0,004	0,005
Chlorkalk 34% Cl	0,005	0,01	0,004	0,005	0,005	0,01	0,004	0,005
Chlorkalk 32% Cl	0,015	0,02	0,005	0,008	0,015	0,02	0,006	0,008
Chlorkalk 20% Cl	0,05	0,1	0,04	0,05	0,05	0,1	0,04	0,05
Chlorkalk 12% Cl	0,2	0,3	0,2	0,25	0,2	0,3	0,2	0,25
Chlorkalk 3% Cl	0,9	1,0	0,4	0,5	0,9	1,0	0,4	0,5
Caporit	0,005	0,01	0,003	0,005	0,005	0,01	0,003	0,005
Magnocid	0,02	0,025	0,015	0,02	0,02	0,025	0,015	0,02
Natriumhypochlorit 25° Bé	0,07	0,08	0,03	0,06	0,07	0,08	0,07	0,08

Antiformin	0,15	0,2	0,05	0,1	0,2	0,3	0,15	0,2
Mota	0,4	0,5	0,2	0,3	0,6	0,8	0,3	0,5
Alfa Asterin	0,7	0,75	0,4	0,5	0,6	0,8	0,3	0,5
Vitosan	1,0	1,1	0,9	1,0	1,7	1,8	1,5	1,6
Kaliumperchlorat	unwirksam				unwirksam			
Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	3,3	3,5	2,8	3,0	3,25	3,5	3,25	3,5
Kaliumperchlorat + HCl 1 : 1	1,3	1,4	0,7	0,8	1,3	1,4	0,5	0,6
Wasserstoffsuperoxyd 30%	0,1	0,2	0,1	0,2	0,15	0,2	0,15	0,2
Kaliumpermanganat chem. rein	0,9	1,0	0,4	0,5	1,0	1,1	0,4	0,5
Kaliumpermanganat techn.	0,9	1,0	0,6	0,7	0,9	1,0	0,6	0,7
Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	0,2	0,25	0,1	0,15	0,2	0,25	0,1	0,15
Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	0,2	0,25	0,05	0,1	0,15	0,2	0,075	0,1
Kaliumpermanganat + NaOH 2 : 1	0,4	0,5	0,15	0,2	0,4	0,5	0,2	0,3
Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	5,3	5,5	1,9	2,0	6,0	7,0	3,0	4,0
Chromsäure	0,15	0,2	0,12	0,13	0,2	0,25	0,1	0,15
Kaliumchromat	0,15	0,2	0,15	0,2	0,2	0,3	0,15	0,2
Kaliumbichromat	0,15	0,2	0,05	0,1	0,2	0,3	0,1	0,15
Natriumnitrit	0,05	0,1	0,02	0,05	6,0	7,0	2,5	3,0
Schweflige Säure	0,1	0,3	0,1	0,2	0,3	0,5	0,1	0,2
Natriumbisulfit	0,1	0,15	0,03	0,05	0,1	0,2	0,05	0,08
Kalziumbisulfit	0,4	0,45	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,3
Natriummetabisulfit	0,1	0,15	0,03	0,05	0,1	0,15	0,06	0,07
Natriumthiosulfat	bis 15% unwirksam				bis 15% unwirksam			
Chlornatrium	bis 37% unwirksam				bis 37% unwirksam			
Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	bis 12% unwirksam		9,0	10,0	bis 12% unwirksam		8,0	10,0
Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	13,0	15,0	4,0	6,0	bis 15% unwirksam		7,0	9,0
Chlornatrium + NaOH (Elmocyt) 0,9 : 04	bis 1,3% unwirksam				bis 1,3% unwirksam			
Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	bis 1,25% unwirksam				bis 1,25% unwirksam			
Antimontrichlorid	2,0	4,0	2,0	4,0	2,0	4,0	2,0	4,0
Zinnchlorür	bis 8% unwirksam				bis 10% unwirksam			
Zinkchlorür	6,0	8,0	4,0	5,0	bis 10% unwirksam			
Quecksilberchlorid (Sublimat)	0,025	0,03	0,01	0,015	0,025	0,03	0,01	0,05
Natriumnitrat	bis 20% unwirksam				bis 20% unwirksam			
Natriumnitrat + NaCl 1 : 1	bis 40% unwirksam				bis 40% unwirksam			
Kaliumnitrat	bis 20% unwirksam				bis 20% unwirksam			
Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	bis 40% unwirksam				bis 40% unwirksam			
Bleinitrat	6,0	9,0	6,0	9,0	bis 15% unwirksam			
Kupfersulfat (Kupfervitriol)	2,5	3,0	2,5	3,0	bis 20% unwirksam			
Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	2,0	2,1	1,9	2,1	3,5	4,0	3,5	4,0
Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1 : 1	4,0	6,0	3,0	4,0	bis 20% unwirksam			

Tab. 3. Antiseptische Wirkung anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze bei 18° C, die dauernd auf flüssigem Nährboden gehalten wurden.

Bei dauernder Einwirkung tötet die Schimmelpilze ab:	%	Dose %
Phenol chemisch rein	0,07	0,08
Salzsäure	1,0	1,5
Schwefelsäure	0,75	1,0
Salpetersäure	0,6	0,94
Borsäure 5%	1,0	1,2
Arsensäure	0,3	0,5
Arsenige Säure	0,3	0,4
Kieselflourwasserstoffsäure	0,2	0,3
Saures fluorsaures Ammonium	0,8	1,0
Kalziumfluorid	0,12	0,15
Montaninfluat „K"	0,1	0,2
Pyricit	0,3	0,5
Natriumhydroxyd chemisch rein	0,3	0,8
Natriumhydroxyd tech.	0,7	0,8
Natriumkarbonat kryst. (Soda)	1,4	1,6
Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	2,0	4,0
Kalziumhydroxyd + NaOH 1 : 1	1,5	1,8
Dinatriumphoshat	11,0	12,0
Trinatriumphosphat	2,8	3,2
Triammoniumphosphat	3,0	4,0
Ortho- und Metanatriumsilikat 10%	4,2	5,0
Chlorkalk 37% Cl	0,03	0,05
Chlorkalk 34% Cl	0,03	0,05
Chlorkalk 32% Cl	0,05	0,07
Chlorkalk 20% Cl	0,06	0,08
Chlorkalk 12% Cl	1,3	1,4
Chlorkalk 3% Cl	2,3	2,5
Caporit	0,005	0,01
Magnocid	0,03	0,05
Natriumhypochlorit 25° Bé	0,05	0,1
Antiformin	0,1	0,15
Mota	0,8	0,9
Alfa Asterin	1,5	1,6
Vitosan	0,7	0,8
Kaliumperchlorat 1,8%	bis 5% unwirksam	
Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	3,3	3,5
Kaliumperchlorat + HCl 1 : 2	2,7	2,8
Wasserstoffsuperoxyd 30%	0,05	0,1
Kaliumpermanganat chemisch rein	0,4	0,45
Kaliumpermanganat tech.	0,5	0,6
Kaliumpermanganat + NaOH tech. 1 : 1	0,1	0,2
Kaliumpermanganat + NaOH tech. 1 : 2	0,2	0,3
Kaliumpermanganat + NaOH tech. 2 : 1	0,1	0,2
Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	2,6	2,8
Chromsäure	0,01	0,015
Kaliumchromat	0,03	0,04
Kaliumbichromat	0,02	0,03
Natriumnitrit	0,1	0,2
Schweflige Säure	0,1	0,2
Natriumbisulfit	0,2	0,3
Kalziumbisulfit	1,0	1,2
Natriummetabisulfit	0,05	0,1
Natriumthiosulfat	bis 15% unwirksam	
Chlornatrium	21,0	22,0
Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	3,5	4,0
Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	3,0	4,0

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Bei dauernder Einwirkung tötet die Schimmelpilze ab:	%	Dose %
Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4 . . .	1,3%	unwirksam
Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35 . . .	1,25%	unwirksam
Antimontrichlorid	0,6	1,3
Zinnchlorür	1,8	2,0
Zinkchlorid	1,0	2,0
Quecksilberchlorid (Sublimat)	0,0075	0,01
Natriumnitrat	bis 20%	unwirksam
Natriumnitrat + NaCl 1: 1	25,0	30,0
Kaliumnitrat	bis 20%	unwirksam
Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	35,0	40,0
Bleinitrat	1,0	2,0
Kupfersulfat (Kupfervitriol)	0,3	0,4
Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	0,3	0,6
Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxb.) 1 : 1	1,0	1,5

Tab. 4. Antiseptische Wirkung anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze in Wasser bei 18° C, die darauf auf flüssigen Nährboden übergeimpft wurden.

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Min. lang			60 Min. lang		
beträgt die Phenolzahl ca.:					
Nr.	Phenol chemisch rein	100	Nr.	Phenol chemisch rein	100
1	Quecksilberchlorid (Sublimat)	4333	1	Quecksilberchlorid (Sublimat) .	8333
2	Caporit	2600	2	Caporit	4167
3	Chlorkalk 37% Cl	1300	3	Chlorkalk 37% Cl	1250
4	Chlorkalk 34% Cl	650	4	Chlorkalk 34% Cl	1250
5	Chlorkalk 32% Cl	650	5	Chlorkalk 32% Cl	833
6	Chromsäure	650	6	Chromsäure	625
7	Kaliumbichromat	433	7	Kaliumbichromat	625
8	Kaliumchromat	325	8	Natriummetabisulfit	625
9	Chlorkalk 20% Cl	325	9	Magnocid	500
10	Magnocid	289	10	Wasserstoffsuperoxyd 30% . .	500
11	Kieselfluorwasserstoffsäure . .	260	11	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	500
12	Kaliumfluorid	260	12	Kaliumchromat	500
13	Wasserstoffsuperoxyd 30% . .	260	13	Natriumnitrit	417
14	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	260	14	Kieselfluorwasserstoffsäure . .	357
15	Natriumnitrit	260	15	Chlorkalk 20% Cl	357
16	Schweflige Säure	260	16	Schweflige Säure	313
17	Montaninfluat „K"	163	17	Kaliumfluorid	250
18	Natriumhypochlorit 25° Bé .	163	18	Pyricit	250
19	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	163	19	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	250
20	Natriummetabisulfit	144	20	Natriumhypochlorit 25° Bé . .	208
21	Natriumbisulfit	144	21	Antiformin	179
22	Pyricit	130	22	Natriumbisulfit	179
23	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	87	23	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	167
24	Kalziumbisulfit	72	24	Montaninfluat „K"	156
25	Natriumhydroxyd chem. rein.	65	25	Mota	125
26	Natriumhydroxyd techn. . .	59	26	Kalziumbisulfit	89
27	Kaliumpermanganat chem. rein	59	27	Vitosan	83

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Antiseptische Wirkung anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze in Wasser bei 18° C, die darauf auf flüssigen Nährboden übergeimpft wurden.

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Min. lang			60 Min. lang		
beträgt die Phenolzahl ca.:					
Nr.			Nr.		
28	Arsenige Säure	52	28	Natriumhydroxyd chem. rein	74
29	Kaliumpermanganat techn.	50	29	Natriumhydroxyd techn.	69
30	Vitosan	48	30	Kaliumpermanganat chem. rein	63
31	Arsensäure	43	31	Kaliumpermanganat techn.	52
32	Mota	43	32	Arsenige Säure	50
33	Alfa Asterin	43	33	Kalziumhydroxyd + NaOH 1 : 1	50
34	Antiformin	39	34	Arsensäure	42
35	Kalziumhydroxyd + NaOH 1:1	37	35	Alfa Asterin	42
36	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	36	36	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	42
37	Salpetersäure	34	37	Salpetersäure	39
38	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	33	38	Schwefelsäure	36
39	Chlorkalk 12% Cl	26	39	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	36
40	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 1	26	40	Chlorkalk 12% Cl	28
41	Schwefelsäure	22	41	Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	25
42	Kaliumperchlorat+NaOH 1,25 : 1	19	42	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 1	25
43	Saures fluorsaures Ammonium	14	43	Saures fluorsaures Ammonium	21
44	Zinkchlorid	14	44	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	21
45	Bleinitrat	14	45	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	18
46	Salzsäure	13	46	Zinnchlorür	14
47	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	13	47	Zinkchlorür	14
48	Zinnchlorür	11	48	Salzsäure	13
49	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	0	49	Bleinitrat	13
50	Triammoniumphosphat	0	50	Triammoniumphosphat	8
51	Borsäure 5%	0	51	Borsäure	0
52	Antimontrichlorid	0	52	Antimontrichlorid	0
53	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.)	0	53	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.)	0
54	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	0	54	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	0
55	Chlorkalk 3% Cl	0	55	Chlorkalk	0
56	Trinatriumphosphat	0	56	Trinatriumphosphat	0
57	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	0	57	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	0
58	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	0	58	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	0
59	Dinatriumphosphat	0	59	Dinatriumphosphat	0
60	Ortho- u. Metanatriumsilikat 10%	0	60	Ortho- und Metanatriumsilikat 10%	0
61	Chlornatrium	0	61	Chlornatrium	0
62	Natriumnitrat + NaCl 1 :	0	62	Natriumnitrat + NaCl 1 : 1	0
63	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	0	63	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	0
64	Natriumthiosulfat	0	64	Natriumthiosulfat	0
65	Kaliumperchlorat 1,8%	0	65	Kaliumperchlorat 1,8%	0
66	Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4	0	66	Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4	0
67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0	67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0
68	Natriumnitrat	0	68	Natriumnitrat	0
69	Kaliumnitrat	0	69	Kaliumnitrat	0

Tab. 5. Antiseptische Wirkung anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze in Wasser bei 18° C, die darauf auf festen Nährboden übergeimpft wurden.

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Min. lang			60 Min. lang		
beträgt die Phenolzahl ca.:					
Nr.	Phenol chem. rein	100	Nr.	Phenol chem. rein	100
1	Queckilberchlorid (Sublimat)	4333	1	Queckilberchlorid (Sublimat)	8333
2	Caporit	2600	2	Caporit	4167
3	Chlorkalk 37% Cl	1300	3	Chlorkalk 37% Cl	1250
4	Chlorkalk 34% Cl	650	4	Chlorkalk 34% Cl	1250
5	Chlorkalk 32% Cl	650	5	Chlorkalk 32% Cl	839
6	Chlorkalk 20% Cl	325	6	Chlorkalk 20% Cl	625
7	Magnocid	260	7	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	500
8	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	260	8	Magnocid	417
9	Schweflige Säure 3,6% SO_2	186	9	Schweflige Säure 3,6% SO_2	313
10	Chromsäure	173	10	Natriummetabisulfit	313
11	Natriumhypochlorit 25° Bé	163	11	Chromsäure	250
12	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	137	12	Natriumhypochlorit 25° Bé	208
13	Natriumbisulfit	118	13	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	208
14	Natriummetabisulfit	108	14	Antiformin	179
15	Wasserstoffsuperoxyd 30%	90	15	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	156
16	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	87	16	Natriumbisulift	139
17	Kalizumbisulfit	72	17	Pyricit	125
18	Kaliumfluorid	65	18	Mota	125
19	Pyricit	65	19	Wasserstoffsuperoxyd 30%	86
20	Kaliumpermanganat chem. rein	52	20	Kaliumbisulfit	78
21	Natriumhydroxyd chem. rein	50	21	Kaliumfluorid	63
22	Natriumhydroxyd techn.	46	22	Vitosan	60
23	Kaliumpermanganat techn.	46	23	Natriumhydroxyd chem. rein	57
24	Vitosan	39	24	Natriumhydroxyd techn.	57
25	Arsenige Säure	37	25	Kaliumpermanganat chem. rein	57
26	Antiformin	37	26	Arsenige Säure	50
27	Salpetersäure	34	27	Kaliumpermanganat techn.	50
28	Kalziumhydroxyd+NaOH 1:1	33	28	Kalziumhydroxyd+NaOH 1 : 1	42
29	Kaliumbichromat	31	29	Alfa Asterin	42
30	Kaliumchromat	29	30	Salpetersäure	34
31	Chlorkalk 12% Cl	26	31	Arsensäure	31
32	Mota	22	32	Kaliumbichromat	31
33	Alfa Asterin	22	33	Kieselfluorwasserstoffsäure	28
34	Montaninfluat „K"	19	34	Chlorkalk 12% Cl	28
35	Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	19	35	Kaliumchromat	28
36	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	13	36	Natriumnitrit	25
37	Arsensäure	12	37	Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	21
38	Kieselfluorwasserstoffsäure	12	38	Montaninfluat „K"	19
39	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	11	39	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	15
40	Natriumnitrit	11	40	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	14
41	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 2	9	41	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	14
42	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	8	42	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 2	9
43	Salzsäure	5	43	Salzsäure	8
44	Schwefelsäure	5	44	Schwefelsäure	6
45	Chlorkalk 3% Cl	0	45	Chlorkalk 3% Cl	0
46	Saures fluorsaures Ammonium	0	46	Saures fluorsaures Ammonium	0
47	Antimontrichlorid	0	47	Antimontrichlorid	0
48	Zinkchlorid	0	48	Zinkchlorid	0

Tabelle 5 (Fortsetzung).

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Min. lang			60 Min. lang		
beträgt die Phenolzahl ca.:					
Nr.			Nr.		
49	Zinnchlorür	0	49	Zinnchlorür	0
50	Bleinitrat	0	50	Bleinitrat	0
51	Borsäure 5%	0	51	Borsäure 5%	0
52	Triammoniumphosphat	0	52	Triammoniumphosphat	0
53	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1 : 1	0	53	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1 : 1	0
54	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	0	54	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	0
55	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	0	55	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	0
56	Trinatriumphosphat	0	56	Trinatriumphosphat	0
57	Dinatriumphosphat	0	57	Dinatriumphosphat	0
58	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	0	58	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	0
59	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1: 1	0	59	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	0
60	Chlornatrium	0	60	Chlornatrium	0
61	Ortho- und Metanatriumsilikat 10%	0	61	Ortho- und Metanatriumsilikat 10%	0
62	Natriumnitrat + NaCl 1 : 1	0	62	Natriumnitrat + CaCl 1 : 1	0
63	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	0	63	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	0
64	Natriumthiosulfat	0	64	Natriumthiosulfat	0
65	Kaliumperchlorat 1,8%	0	65	Kaliumperchlorat 1,8%	0
66	Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4	0	66	Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4	0
67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0	67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0
68	Natriumnitrat	0	68	Natriumnitrat	0
69	Kaliumnitrat	0	69	Kaliumnitrat	0

Tab. 6. Antiseptische Wirkung (Phenolzahl) anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze in Wasser bei 50° C, die darauf auf flüssigen Nährboden übergeimpft wurden.

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Min. lang			60 Min. lang		
beträgt die Phenolzahl ca.:					
Nr.	Phenol chem. rein	100	Nr.	Phenol chem. rein	100
1	Caporit	4500	1	Caporit	7000
2	Chlorkalk 37% Cl	4500	2	Chlorkalk 37% Cl	7000
3	Chlorkalk 34% Cl	4500	3	Chlorkalk 34% Cl	7000
4	Chlorkalk 32% Cl	2250	4	Chlorkalk 32% Cl	4375
5	Magnocid	1800	5	Quecksilberchlorid (Sublimat)	2333
6	Quecksilberchlorid (Sublimat)	1500	6	Magnocid	1750
7	Natriumhypochlorit 25° Bé	563	7	Chlorkalk 20% Cl	700
8	Kaliumfluorid	450	8	Natriumnitrit	700
9	Chlorkalk 20% Cl	450	9	Natriummetabisulfit	700
10	Natriumnitrit	450	10	Natriumhypochlorit 25° Bé	583
11	Montaninfluat „K"	300	11	Natriumbisulfat	583
12	Natriummetabisulfit	300	12	Kieselfluorwasserstoffsäure	350
13	Natriumbisulfit	300	13	Kaliumfluorid	350
14	Kieselfluorwasserstoffsäure	225	14	Antiformin	350
15	Antiformin	225	15	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	350

Tabelle 6 (Fortsetzung).

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Min. lang			60 Min. lang		
beträgt die Phenolzahl ca.:					
Nr.			Nr.		
16	Wasserstoffsuperoxyd 30%	225	16	Kaliumbichromat	350
17	Chromsäure	225	17	Chromsäure	269
18	Kaliumbichromat	225	18	Montaninfluat „K“	233
19	Kaliumchromat	225	19	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	233
20	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	180	20	Borsäure 5%	175
21	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	180	21	Wasserstoffsuperoxyd 30%	175
22	Chlorkalk 12% Cl	150	22	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	175
23	Schweflige Säure	150	23	Kaliumchromat	175
24	Kalziumbisulfit	100	24	Schweflige Säure	175
25	Pyricit	90	25	Chlorkalk 12% Cl	140
26	Natriumhydroxyd chem. rein	90	26	Pyricit	117
27	Mota	90	27	Mota	117
28	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	90	28	Kalziumbisulfit	117
29	Alfa Asterin	60	29	Natriumhydroxyd chem. rein	88
30	Natriumhydroxyd techn.	56	30	Salpetersäure	70
31	Arsenige Säure	50	31	Chlorkalk 3% Cl	70
32	Chlorkalk 3% Cl	45	32	Alfa Asterin	70
33	Kaliumpermanganat chem. rein	45	33	Kaliumpermanganat chem. rein	70
34	Kaliumpermanganat techn.	45	34	Arsenige Säure	58
35	Vitosan	41	35	Natriumhydroxyd techn.	54
34	Borsäure 5%	38	36	Kaliumpermanganat techn.	50
37	Salpetersäure	35	37	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 1	44
38	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 1	32	38	Arsensäure	35
39	Arsensäure	28	39	Triammoniumphosphat	35
40	Saures fluorsaures Ammonium	28	40	Vitosan	35
41	Kalziumhydroxyd + NaOH 1:1	28	41	Schwefelsäure	29
42	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	21	42	Kalziumhydroxyd + NaOH 1 : 1	29
43	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	15	43	Saures fluorsaures Ammonium	27
44	Triammoniumphosphat	15	44	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	18
45	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	15	45	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	17
46	Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	13	46	Salzsäure	14
47	Antimontrichlorid	11	47	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	14
48	Salzsäure	9	48	Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	12
49	Schwefelsäure	9	49	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	12
50	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	8	50	Antimontrichlorid	9
51	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1 : 1	8	51	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1 : 1	9
52	Zinnchlorid	6	52	Zinnchlorid	7
53	Bleinitrat	5	53	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	6
54	Dinatriumphosphat	4	54	Bleinitrat	4
55	Trinatriumphosphat	3	55	Trinatriumphosphat	4
56	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	3	56	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	4
57	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	2	57	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	3
58	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	0	58	Dinatriumphosphat	3
59	Zinnchlorür	0	59	Zinnchlorür	0
60	Ortho- und Metanatriumsilikat	0	60	Natriumthiosulfat	0
61	Chlornatrium	0	61	Ortho- und Metanatriumsilikat	0

Tabelle 6 (Fortsetzung).

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Minuten lang			60 Minuten lang		
beträgt die Phenolzahl ca.:					
Nr.			Nr.		
62	Natriumnitrat + NaCl 1 : 1 .	0	62	Kaliumperchlorat 1,8%	0
63	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1 .	0	63	Chlornatrium	0
64	Natriumthiosulfat	0	64	Natriumnitrat + NaCl 1 : 1 . .	0
65	Kaliumperchlorat 1,8% . . .	0	65	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1 . .	0
66	Chlornatrihm + NaOH (Elmocyt) 0,9 : 0,4	0	66	Chlornatrium + NaOH (Elmocyt) 0,9 : 0,4	0
67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0	67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0
68	Natriumnitrat	0	68	Natriumnitrat	0
69	Kaliumnitrat	0	69	Kaliumnitrat	0

Tab. 7. Antiseptische Wirkung (Phenolzahl) anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze in Wasser bei 50⁰ C, die darauf auf festen Nährboden übergeimpft wurden.

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Min. lang			60 Min. lang		
beträgt die Phenolzahl ca.:					
Nr.	Phenol chem. rein	100	Nr.	Phenol chem. rein	100
1	Caporit	5000	1	Caporit	8000
2	Chlorkalk 37% Cl	5000	2	Chlorkalk 37% Cl	8000
3	Chlorkalk 34% Cl	5000	3	Chlorkalk 34% Cl	8000
4	Chlorkalk 32% Cl	2500	4	Chlorkalk 32% Cl	5000
5	Magnocid	2000	5	Quecksilberchlorid (Sublimat) .	2667
6	Quecksilberchlorit (Sublimat) .	1667	6	Magnocid	2000
7	Natriumhypochlorit 25⁰ Be .	625	7	Chlorkalk 20% Cl	800
8	Kaliumfluorid	500	8	Natriummetabisulfit	571
9	Chlorkalk 20% Cl	500	9	Natriumhypochlorit 25⁰ Be . .	500
10	Natriummetabisulfit	333	10	Natriumbisulfit	500
11	Wasserstoffsuperoxyd 30% . .	250	11	Kaliumfluorid	400
12	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	250	12	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 2	400
13	Natriumbisulfit	250	13	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	267
14	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	200	14	Chromsäure	267
15	Chromsäure	200	15	Kaliumbichromat	267
16	Chlorkalk 12% Cl	167	16	Borsäure 5%	200
17	Antiformin	167	17	Antiformin	200
18	Kaliumbichromat	167	18	Wasserstoffsuperoxyd	200
19	Kaliumchromat	167	19	Kaliumchromat	200
20	Natriumhydroxyd chem. rein .	125	20	Schweflige Säure	200
21	Kalziumbisulfit	125	21	Chlorkalk 12% Cl	160
22	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	100	22	Montaninfluat „K"	133
23	Schweflige Säure	100	23	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	133
24	Montaninfluat „K"	63	24	Kalziumbisulfit	133
25	Mota	63	25	Natriumhydroxyd chem. rein .	100
26	Alfa Asterin	63	26	Salpetersäure	80
27	Kieselfluorwasserstoffsäure . .	56	27	Pyricit	80
28	Borsäure 5%	50	28	Chlorkalk 3% Cl	80
29	Arsenige Säure	50	29	Mota	80

Tabelle 7 (Fortsetzung).

Antiseptische Wirkung (Phenolzahl) anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze in Wasser bei 50° C, die darauf auf festen Nährboden übergeimpft wurden.

Bei einer Wirkung des Antiseptikums					
10 Min. lang			60 Min. lang		
beträgt die Phenolzahl ca.					
Nr.			Nr.		
30	Pyricit	50	30	Alfa Asterin	80
31	Natriumhydroxyd techn.	50	31	Kaliumpermanganat chem. rein	80
32	Chlorkalk 3% Cl	50	32	Kieselfluorwasserstoffsäure	67
33	Kaliumpermanganat techn.	50	33	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 2	67
34	Kaliumpermanganat chem. rein	45	34	Natriumhydroxyd techn.	62
35	Salpetersäure	38	35	Arsenige Säure	57
36	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 2	36	36	Kaliumpermanganat techn.	57
37	Sauresfluorsaures Ammonium	31	37	Schwefelsäure	33
38	Vitosan	28	38	Saures fluorsaures Ammonium	25
39	Kalziumhydroxyd + NaOH 1:1	21	39	Vitosan	25
40	Arsensäure	17	40	Kalziumhydroxyd + NaOH 1 : 1	20
41	Triammoniumphosphat	17	41	Salzsäure	16
42	Kaliumperchlorat + NaOH 1 25 : 1	14	42	Arsensäure	15
43	Antimontrichlorid	13	43	Triammoniumphosphat	13
44	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	13	44	Natriumnitrit	13
45	Schwefelsäure	10	45	Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	11
46	Salzsäure	8	46	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	10
47	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	7	47	Antimontrichlorid	10
48	Natriumnitrit	7	48	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	10
49	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	5	49	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	8
50	Dinatriumphosphat	4	50	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	4
51	Zinkchlorid	0	51	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	4
52	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	0	52	Dinatriumphosphat	3
53	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	0	53	Trinatriumphosphat	3
54	Trinatriumphosphat	0	54	Zinkchlorid	0
55	Zinnchlorür	0	55	Zinnchlorür	0
56	Bleinitrat	0	56	Bleinitrat	0
57	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	0	57	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	0
58	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1 : 1	0	58	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1 : 1	0
59	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	0	59	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	0
60	Chlornatrium	0	60	Chlornatrium	0
61	Natriumthiosulfat	0	61	Natriumthiosulfat	0
62	Ortho- und Metanatriumsilikat	0	62	Ortho- und Metanatriumsilikat	0
63	Kaliumperchlorat 1,8%	0	63	Kaliumperchlorat 1,8%	0
64	Natriumnitrat + NaCl 1 : 1	0	64	Natriumnitrat + NaCl 1 : 1	0
65	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	0	65	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	0
66	Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4	0	66	Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4	0
67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0	67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0
68	Natriumnitrat	0	68	Natriumnitrat	0
69	Kaliumnitrat	0	69	Kaliumnitrat	0

Tab. 8. Antiseptische Wirkung (Phenolzahl) anorganischer Substanzen auf Schimmelpilze bei 18° C, die dauernd auf flüssigem Nährboden gehalten wurden.

Nr.		Bei dauernder Wirkung des Antiseptikums beträgt die Phenolzahl ca.:
	Phenol chem. rein	100
1	Caporit	800
2	Quecksilberchlorid (Sublimat)	800
3	Chromsäure	533
4	Kaliumbichromat	267
5	Kaliumchromat	200
6	Chlorkalk 37% Cl	160
7	Chlorkalk 34% Cl	160
8	Magnocid	160
9	Chlorkalk 32% Cl	114
10	Chlorkalk 20% Cl	100
11	Natriumhypochlorit 25° Be	80
12	Wasserstoffsuperoxyd 30%	80
13	Natriummetabisulfit	80
14	Kalziumfluorid	53
15	Antiformin	53
16	Montaninfluat „K"	40
17	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 1 : 1	40
18	Kaliumpermanganat + NaOH techn. 2 : 1	40
19	Natriumnitrit	40
20	Schweflige Säure	40
21	Kaliumpermanganat + NaOH tech. 1 : 2	27
22	Natriumbisulfit	27
23	Kieselfluorwasserstoffsäure	27
24	Arsenige Säure	20
25	Kupfersulfat (Kupfervitriol)	20
26	Kaliumpermanganat	18
27	Arsensäure	16
28	Pyricit	16
29	Kaliumpermanganat techn.	13
30	Kupfersulfat + NaOH 1 : 1	13
31	Natriumhydroxyd chem. rein	10
32	Natriumhydroxyd techn.	10
33	Vitosan	10
34	Mota	9
35	Salpetersäure	9
36	Schwefelsäure	8
37	Saures fluorsaures Ammonium	8
38	Borsäure 5%	7
39	Kalziumbisulfit	7
40	Antimontrichlorid	6
41	Chlorkalk 12% Cl	6
42	Salzsäure	5
43	Kupfersulfat + $Ca(OH)_2$ (Bordeauxbr.) 1 : 1	5
44	Natriumkarbonat kryst. (Soda)	5
45	Alfa Asterin	5
46	Kalziumhydroxyd + NaOH 1 : 1	4
47	Zinchlorür	4
48	Zinkchlorid	4
49	Bleinitrat	4
50	Chlorkalk 3% Cl	3
51	Kaliumperchlorat + HCl 1 : 2	3
52	Kaliumpermanganat + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	3
53	Trinatriumphosphat	3
54	Kaliumperchlorat + NaOH 1,25 : 1	2
55	Kalziumhydroxyd (gelöschter Kalk)	2

Tabelle 8 (Fortsetzung).

Nr.	Bei dauernder Wirkung des Antiseptikums beträgt die Phenolzahl ca.:	
56	Triammoniumphosphat	2
57	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 1	2
58	Chlornatrium + $Ca(OH)_2$ 1 : 5	2
59	Ortho- und Metanatriumsilikat 10%	2
60	Dinatriumphosphat	1
61	Chlornatrium	0
62	Natriumnitrat + NaCl 1 : 1	0
63	Kaliumnitrat + NaCl 1 : 1	0
64	Natriumthiosulfat	0
65	Kaliumperchlorat 1,8%	0
66	Chlornatrium + NaOH (Elmocyt al.) 0,9 : 0,4	0
67	Chlornatrium + HCl (Elmocyt sau.) 0,9 : 0,35	0
68	Natriumnitrat	0
69	Kaliumnitrat	0

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den durchgeführten Untersuchungen geht hervor, daß die antiseptische Wirkung der einzelnen Substanzen sehr verschieden ist und daß im Einklang mit den bisherigen, bekannten Erfahrungen ihre abtötende Kraft mit steigender Temperatur, Einwirkungsdauer und Konzentration zunimmt. Diese Einwirkungsbedingungen haben jedoch nicht bei allen chemischen Substanzen einen gleichgroß anregenden Einfluß. Der Einfluß der Temperatur z. B. zeigt sich am kräftigsten bei Substanzen mit schwacher desinfizierender Kraft. Gewöhnlich wirken solche Substanzen, die in Zimmertemperatur fast ohne Einfluß sind, in höheren Temperaturen mitunter ziemlich kräftig, wie z. B. Borsäure.

Es gibt nur verhältnismäßig wenige solcher Substanzen, die selbst in schwacher Konzentration die Schimmelpilze fast augenblicklich abtöten. Die überwiegende Anzahl chemischer Substanzen muß man in stärkerer Konzentration verwenden bzw. längere Zeit einwirken lassen, um eine Abtötung der Schimmelpilze zu erzielen. Da die Abtötung des Mikroorganismus unter dem Einfluß einer weitgehenden Plasmadeformation erfolgt, werden diejenigen Substanzen einen schnellen Tod der Schimmelpilze herbeiführen, die schneller in deren Plasma einzudringen und eine dauernde, weitgehende Plasmadeformation hervorzubringen vermögen.

Eigenartig und grundsätzlich verschieden verhalten sich die Schimmelpilze je nachdem, ob sie mit dem aufgenommenen Antiseptikum auf einen flüssigen oder auf einen festen Nährboden übergeimpft werden. Man sollte annehmen, daß das von den Schimmelpilzen aufgenommene Antiseptikum leicht und schnell ausgewaschen wird, wenn diese Schimmelpilze später auf einen flüssigen Nährboden übergeimpft werden, daß dagegen dieses Antiseptikum im Pilzplasma verbleibt und stark schädlich wirkt, wenn der Schimmelpilz auf einen festen, besonders auf einen Gelatinenährboden übergeimpft wird. Hinsichtlich dieser Ansicht zeigen unsere Untersuchungen eine geradezu umgekehrte Erscheinung. Der mit dem Antiseptikum behandelte, auf flüssigen Nährboden übertragene Schimmelpilz stirbt verhältnismäßig leicht und schnell ab, was wir bei einer Übertragung auf festen Nährboden nicht feststellen können. Im letzteren Falle erfahren Schimmelpilze mit

allen Zeichen eines toten Organismus auf flüssigem Nährboden, wenn sie auf festen Gelatinenährboden übertragen werden, eine allmähliche Regeneration, können sich schließlich vermehren und sogar Sporen bilden, wenn ihr Plasma unter dem Einfluß des Antiseptikums vorher nicht vollständig deformiert war.

Am kräftigsten wirken alle desinfizierenden Substanzen in destilliertem Wasser, schwächer in flüssigen Nährlösungen, jedoch je nach deren Konzentration; auf feste Nährboden übergeimpft, vertragen dagegen die Schimmelpilze bedeutend größere Konzentrationen des Antiseptikums als auf flüssigem Nährboden. Man kann daher bei der Einwirkung chemischer Verbindungen auf Schimmelpilze ein dreierlei verschiedenes Verhalten derselben feststellen:

a) Die untersuchte Substanz bewirkt bei der gegebenen Konzentration während der Einwirkungszeit keine dauernde Plasmadeformation der Schimmelpilze, hat demnach eine schwache Wirkung oder ist unschädlich. In solchen Fällen entwickeln sich die Schimmelpilze, sobald sie nach Einwirkung des Antiseptikums auf flüssigen Nährboden übergeimpft sind, sofort bzw. erst nach einigen Tagen und bilden Sporen. Im ersteren Falle war das Plasma nicht beschädigt. Die chemische Substanz blieb daher auf die Schimmelpilze ohne Einfluß. Im zweiten Falle war das Plasma teilweise beschädigt, und erst nach allmählicher Entfernung der chemischen Substanz aus dem Plasma durch Verdünnung dieser Substanz mit der Nährlösung erfolgte eine Entwicklung des Schimmelpilzes. Je schwächer demnach die Plasmadeformation des Schimmelpilzes war, d. h. je weniger schädlich die Wirkung des verwendeten Stoffes war, um so schneller und üppiger erfolgte die Schimmelpilzentwicklung.

b) die untersuchte Substanz rief in der verwendeten Konzentration eine tiefgehende Plasmadeformation hervor, beschädigte demnach den Schimmelpilz im kräftigem Maße. Derartige Schimmelpilze entwickeln sich, auf flüssigen Nährboden übergeimpft, nicht und bleiben tot. Wenn sie jedoch auf festen Nährboden sofort oder selbst auf diesen von der flüssigen Nährlösung aus übergeimpft werden, lassen sie nach gewisser Zeit eine Myzelentwicklung erkennen und können selbst zur Sporenbildung gelangen; das Plasma war demnach nicht abgetötet, sondern nur kräftig deformiert. Auf schwach feuchter, fester Nährlösung erfolgt bei Luftzutritt eine Plasmaregeneration, derzufolge der Schimmelpilz sich zu entwickeln beginnt. Je kräftiger unter dem Einfluß des chemischen Stoffes die Plasmadeformation war, um so länger dauert es, bis die Regeneration und die Entwicklung des Schimmelpilzes erfolgen, die wiederum um so üppiger sein wird, je schwächer verhältnismäßig das Plasma beschädigt war.

c) Die untersuchte Substanz beschädigte das Plasma so stark, daß dieses dauernd und weitgehend deformiert wurde, daß demnach die Schimmelpilze abgetötet wurden. Der auf den festen Nährboden übergeimpfte Schimmelpilz ist bereits tot, da sein Plasma nicht regenerationsfähig ist und sich deshalb nicht wieder entwickeln kann.

Dieses besondere Verhalten der Schimmelpilze verschiedenen Substanzen gegenüber kann durch eine Einwirkung dieser Substanzen auf das Schimmelpilzplasma bzw. auf gewisse Bestandteile desselben oder durch Verbindungen mit diesen erklärt werden. Wenn jedoch die Bestandteile des Nährbodens eine größere Verwandtschaft zu den untersuchten chemischen Substanzen als diese letzteren zu den Bestandteilen des Plasmas aufweisen, dann erfolgt eine Regeneration des Plasmas, wenn dessen Deformation nicht zu tiefgehend

war: sie beruht darauf, daß die betreffenden Substanzen aus dem Plasma in die dieses umgebende Nährlösung übergehen, wodurch der Schimmelpilz seine Entwicklungsfähigkeit zurückerhält.

Ein charakteristisches Beispiel einer solchen Regeneration ist der Einfluß der Schwefelsäure auf Schimmelpilze. Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß zur Abtötung von Schimmelpilzen in Wasser, die darauf auf 8proz. Malzwürze übergeimpft wurden, eine 10 Min. lange Einwirkung von 6proz. Schwefelsäure erforderlich ist. Wenn dagegen nach der Säureeinwirkung die Schimmelpilze auf Gelatinenährboden übergeimpft waren, dann war zu deren Abtötung eine 10 Min. lange Einwirkung von 25proz. Schwefelsäure erforderlich. Erst bei einer derartigen Säuremenge sterben die Schimmelpilze wirklich ab, da sie sich nach Überimpfung auf den festen Nährboden nicht mehr entwickeln. Ein anderes Beispiel eines ähnlichen Verhaltens der Schimmelpilze ist der Einfluß von Kieselfluorwasserstoffsäure oder Natriumnitrit. Von diesen Substanzen genügen zur Abtötung der Schimmelpilze in Wasser 0,5% bei 10 Min. langer Einwirkung. Wenn dagegen nach Einwirkung dieser Substanzen die Schimmelpilze auf Gelatinenährboden übergeimpft werden, dann braucht man zu ihrer Abtötung unter denselben Bedingungen eine 11proz. Lösung der ersten und sogar eine 12proz. Lösung der zweiten Substanz.

Eigenartig ist auch das Verhalten der Schimmelpilze, wenn auf diese desinfizierenden Substanzen in gasförmigem Zustande bzw. Substanzen, die den desinfizierenden Faktor in Gasform ausscheiden, einwirken. Es zeigt sich, daß ihre Wirkung weniger von der Menge als von der Konzentration abhängt, in der sich der gasförmige, antiseptische Stoff befindet. Ein vorzügliches Beispiel dafür ist der Einfluß von Chlorkalk mit verschiedener aktiver Chlormenge (unterchlorige Säure). Zur Untersuchung wurde Chlorkalk mit einem Gehalt von 37, 34, 32, 20, 12 und 3% aktiven Chlors verwendet. Bei einer Einwirkung bei 50° C waren zur Abtötung der Schimmelpilze im Verlauf von 10 Min. etwa 35 mg Chlor/Liter Wasser 34—37proz. Chlorkalkes oder etwa 64 mg Chlor/Liter 32proz. Chlorkalkes oder etwa 200 mg Chlor/Liter 20proz. Chlorkalkes, ferner 360 mg Chlor/Liter 12proz. Chlorkalkes oder schließlich etwa 3000 mg Chlor/Liter 3proz. Chlorkalkes erforderlich. Je nach der gasförmigen Konzentration des verwendeten aktiven bzw. des aus den Chlorpräparaten ausgeschiedenen Chlors zeigt sich also die antiseptische Wirkung derselben Chlormenge als sehr verschieden. Diese Feststellung erklärt auch, warum bei verschiedenen Autoren so grundsächlich abweichende prozentuelle Chlormengen zwecks Desinfektion anempfohlen werden.

Ähnliche Verhältnisse finden wir auch bei anderen Substanzen, die den antiseptischen Stoff in Gasform abscheiden, wie z. B. Schwefeldioxyd, aktiven Sauerstoff (O-Atom) und ähnliche.

Die antiseptische Wirkung der einzelnen Substanzen ist sehr verschieden und läßt sich nicht immer leicht erklären.

Zu den kräftigsten desinfizierenden Mitteln gehört Sublimat, ein seit langem bekannter giftiger Stoff. Eigenartig ist jedoch, daß andere Metalle, die energisch Eiweiß ausfällen, wie besonders Kupfer, sich als schwach desinfizierende Mittel gegen Schimmelpilze erweisen. Weiterhin muß man zur Gruppe stark desinfizierend wirkender Mittel alle Substanzen und Präparate rechnen, die gasförmiges Chlor in großer Konzentration ausscheiden. Ihre desinfizierende Fähigkeit nimmt in nicht proportionalem Maße zur Abnahme der Menge und Konzentration des ausgeschiedenen tätigen Chlors ab.

An zweiter Stelle müssen hinsichtlich der desinfizierenden Kraft gewisse Fluorverbindungen, ferner oxydierend oder schwach reduzierend wirkende Substanzen und Präparate erwähnt werden. Hierher gehören einerseits Chromsäure und gewisse Salze derselben mit sechswertigem Chrom, ferner Wasserstoffsuperoxyd, andererseits Substanzen, die gasförmiges Schwefeldioxyd ausscheiden. Darauf folgen Natronlauge und Stoffe in gewisser Kombination mit Natronlauge. Die meisten Säuren zeigen sich als schwach desinfizierend wirkende Mittel. Zu den schwächsten bzw. wertlosen Mitteln gehören Natriumchlorid, Natrium- und Kaliumnitrat, Ätzkalk, zwei- und dreibasische Natriumphosphate, ferner Natrium- und Kaliumkarbonat. Die letzten 5 Substanzen sind nur bei dauernder Einwirkung oder in erwärmtem Zustande wirksam.

Von den Gemengen verschiedener Substanzen erweisen sich als wirksame, desinfizierende Mittel nur diejenigen, die bei der Lösung aufeinander einwirken und Substanzen mit stark desinfizierenden Eigenschaften ausscheiden, wie z. B. Chlor, aktiven Sauerstoff (O-Atom) oder Schwefeldioxyd. In gewissen Fällen erhöht Natronlauge als gewebelösender Faktor etwas die desinfizierende Wirkung. Substanzgemenge, die die obigen Eigenschaften nicht besitzen, wirken schwächer desinfizierend als ihre einzelnen Bestandteile. Aus diesem Grunde erwiesen sich auch die sog. sauren und basischen Elmozyten hinsichtlich ihrer desinfizierenden Wirkung gegen Schimmelpilze als wertlos.

Zusammenfassung.

Unsere Untersuchungen über die desinfizierenden Eigenschaften von 69 anorganischen Stoffen und deren Gemischen gegen Schimmelpilze führen uns zu folgenden Schlüssen:

1. Bei der Untersuchung desinfizierender Stoffe muß man die Schimmelpilze nach der Einwirkung der desinfizierenden Substanz auf ein flüssiges und auf ein festes Gelatinesubstrat überimpfen und dort wenigstens 2 Wochen lang halten. Auf dem flüssigen Nährboden erweisen sich die Schimmelpilze nach der Einwirkung einer bedeutend geringeren Menge des desinfizierenden Stoffes als abgestorben, als dies bei der Überimpfung derselben auf festen Nährboden der Fall ist. Um sich daher zu überzeugen, ob die Schimmelpilze abgetötet sind, muß man diese stets auf festen Nährboden überimpfen. Hier kann eine Regeneration des Pilzplasmas eintreten, wenn unter dem Einfluß des desinfizierenden Stoffes nicht eine dauernde Deformation und Abtötung desselben eingetreten ist.

2. Sämtliche desinfizierende Mittel kann man in zwei Gruppen teilen:

a) in solche, die schnell in das Plasma eindringen und dieses dauernd deformieren. Die Schimmelpilze sterben unter dem Einfluß derselben schnell ab;

b) in solche, die langsam in das Plasma eindringen oder bei selbst schnellem Eindringen dieses langsam deformieren. Die Schimmelpilze sterben bei längerer Einwirkung dieser antiseptischen Mittel oder bei hoher Konzentration derselben ab. Die Schimmelpilze erweisen sich unter dem Einfluß dieser Substanzen auf flüssigen Nährböden als leblos, aber auf feste Nährböden übergeimpft, erfahren sie bei kleineren Dosen des Antiseptikums eine Regeneration und erhalten ihre Entwicklungsfähigkeit zurück.

3. Chemische Substanzen, die den antiseptischen Stoff in Gasform ausscheiden, zeigen eine um so größere antiseptische Wirksamkeit, in je höherer Konzentration sich dieser gasförmige Faktor befindet.

4. Die kräftigsten desinfizierenden Stoffe sind Sublimat und Substanzen, die Chlor in hoher Konzentration ausscheiden, ferner stark oxydierende oder stark reduzierende Stoffe. Ihre Wirkung geht aus den beigefügten Tabellen hervor.

5. Gemische von chemischen Substanzen zeigen sich nur dann als wirksam, wenn sie in der Lösung aufeinander einwirken und einen antiseptischen Stoff mit größerer Kraft ausscheiden, als ihn die einzelnen Bestandteile dieses Gemisches besitzen.

6. Schwach desinfizierende Stoffe sind verschiedene Säuren. Als noch schwächer erwiesen sich: Soda, Ätzkalk, zwei und dreibasische Natriumphosphate. Unschädlich sind Natrium- oder Kaliumnitrat, Kochsalz und Elmozyten.

Die Untersuchung epiphytischer Pilze nach dem Abdruckverfahren (Zelloidinhäutchen-Methode).

[Aus der Staatsanstalt für Pflanzenschutz, Wien.]

Von **Hans Wenzl.**

Mit 5 Abbildungen im Text.

Zur Untersuchung von Pilzen, die auf pflanzlichen Organen parasitieren oder an deren Oberfläche aufsitzen, bedient man sich fast ausschließlich der auch sonst in der phytoanatomischen Technik üblichen Methoden. Für praktisch-diagnostische Zwecke der Phytopathologie genügt es häufig sogar, von den makroskopisch als befallen erkannten Pflanzenteilen den Pilzbelag abzuschaben oder ein Quetsch- oder Zupfpräparat herzustellen. Wo es sich nicht um eingehendere Studien, sondern lediglich um die mikroskopische Identifizierung bekannter Pilze handelt, findet man mit diesen einfach und schnell arbeitenden Methoden vielfach das Auslangen.

Gilt es jedoch beispielsweise von epiphytischen Pilzen für Demonstrationszwecke Präparate herzustellen, in denen der Pilzbelag in möglichst natürlicher Lage zu sehen ist, ohne daß die Durchsichtigkeit durch eine zu große Schnittdicke leidet, so ergeben sich vielfach bedeutende Schwierigkeiten. Ebenso kann für diagnostische Zwecke die Notwendigkeit bestehen, den natürlichen Zellverband bei der Präparation möglichst ungestört zu erhalten. Auch in anderen Fällen wird die Herstellung von Schnitten oder von Schabe- und Zupfpräparaten versagen: wo es sich um den Nachweis geringer Reste von Sporen handelt, nach denen die Bestimmung möglich ist — insbesondere auf alten, vertrockneten und dunkel verfärbten Pflanzenteilen —, wie auch im Fall ganz junger Infektionsstadien mit erst beginnender Fruktifikation. Ebenso ist es mit den üblichen Methoden oft nur schwer möglich — vielfach sogar unmöglich —, die Sporenkeimung am natürlichen Substrat zu verfolgen; wenngleich man mitunter mit Aufhellung des Gewebes und Anfärbung der Pilze zum Ziel kommt, stellt die etwas mühsame Arbeitsweise jedenfalls einen Nachteil dar.

Zur Lösung derartiger Aufgaben drängt sich der Gedanke auf, eine Methode anzuwenden, die die epiphytischen Pilze, ohne die Lageverhältnisse

zu stören, von ihrem Substrat abzuheben gestattet. Ein solches Verfahren ist zumindest im Prinzip schon vor mehreren Jahrzehnten bekanntgeworden: die Kollodiumhäutchen-Methode. Hinsichtlich der praktischen Anwendbarkeit in der phytopathologischen Diagnostik besitzen wir jedoch keine Erfahrungen. Untersuchungen über die Brauchbarkeit dieser Methode in der Phytopathologie lagen mir um so näher, als ich mit Abdrucken aus Zelloidin bei Spaltöffnungsstudien sehr gute Erfahrungen gemacht hatte [Wenzl (1939)]. Die durchsichtigen Häutchen (auch als Film, Abdruck, Abzug oder Abklatsch bezeichnet) geben im mikroskopischen Bild alle Einzelheiten der Oberflächengestaltung (Zellgrenzen, Cuticularstrukturen, Spaltöffnungsweiten) im Negativabdruck wieder. Daneben enthalten sie alles eingeschlossen, was sich an der Oberfläche des Organs vorfand und dem Substrat nicht allzu fest anhaftete: Staubteilchen, Pollenkörner, Haare, aber auch Pilzhyphen und Sporen.

Im folgenden werden die mehrjährigen Erfahrungen über die Verwertbarkeit der Abdruckmethode in der Phytopathologie wiedergegeben.

Einschlägiges Schrifttum.

Die älteste Mitteilung über die Verwendung von Kollodiumfilmen zum Studium epiphytischer Pilze stammt von Gaillard (1891). Nach dessen Verfahren wird das Kollodium mit einer Mischung von Alkohol und Äther herausgelöst und die zurückbleibenden Einschlüsse in Glyzeringelatine eingebettet. Diese Präparate sollen die Pilze genau in der natürlichen Lage zeigen, was aber nicht zutrifft. Die Beobachtung der natürlichen Lageverhältnisse ist nur im intakten festen oder gequollenen Häutchen möglich. Buscalioni und Pollacci (1901) erwähnen in ihrer Arbeit, die sich hauptsächlich mit Transpirationsstudien beschäftigt, auch die Anwendung der Kollodiummethode zum Studium epiphytischer Pilze. Es wird gegenüber Gaillard betont, daß die Häutchen selbst mikroskopisch geprüft werden sollen.

Erst nach dem Erscheinen einer kurzen vorläufigen Mitteilung (Wenzl, 1934) über die Verwendung der Zelloidinmethode für diagnostische Zwecke in der Phytopathologie, wurde ich auf eine Arbeit aufmerksam, die gleichfalls auf die Verwertbarkeit des Abdruckverfahrens für phytopathologische Zwecke hinweist, ohne daß sie durch den Autor eine praktische Anwendung gefunden hätte: Neuwirth (1929) gibt in seiner Arbeit, die sich übrigens vor allem mit oberflächenanatomischen Studien des Zuckerrübenblattes beschäftigt, nur ein einziges Beispiel an: Uromyces betae auf Rübenblättern; doch ist dieser Pilz eines jener Objekte, wo die Herstellung von Oberflächenfilmen keine Vorteile bringt, sondern jedes Schnitt- oder Schabepräparat mehr zeigt als ein Abdruck (vgl. Abschnitt I). Es muß auch in diesem Zusammenhang betont werden, daß die Abklatschmethode zum Studium der Beziehungen zwischen Parasit und Wirtspflanze (z. B. Auflösen und Durchdringen von Epidermiszellmembranen durch Pilzhyphen) niemals so leistungsfähig sein kann, wie die Schnittechnik.

Schmidt hat bereits 1924 Kollodiumhäutchen zum Studium der Keimung der Sporen von Fusicladium pirinum auf Blättern verschiedener Pflanzen mit bestem Erfolg verwendet. Dies ist die einzige Arbeit, in der die Abdruckmethode bisher eine praktische Anwendung gefunden hat.

Auch Abbot (1925) stellte zu Demonstrationszwecken von Erysipheen eine Art Abklatschpräparat her: Erwärmte flüssige Glyzeringelatine wird auf einem Objektträger ausgestrichen und nach dem Erkalten das Blatt mit dem Mehltaubelag auf die Schicht aufgepreßt, so daß zumindest ein Teil der Hyphen und Konidienträger in annähernd natürlicher Lagerung darauf haften bleibt. Diese Methode kommt jedoch dem Abdruckverfahren unter Verwendung von Substanzen, die auf das zu untersuchende Objekt im flüssigen Zustand aufgestrichen werden, weder in der Leistungsfähigkeit noch im Anwendungsbereich gleich.

I. Die Grenzen der Anwendbarkeit des Abdruckverfahrens.

Es gibt zahlreiche Fälle, in denen die Abdruckmethode versagt, wo mit einfacher und schneller herzustellenden Schabe-, Quetsch- oder Zupfpräparaten oder auch in Oberflächenschnitten viel mehr gezeigt werden kann als

mit einem Abklatsch. Die Grenzen der vorteilhaften Anwendbarkeit der beschriebenen Methode sind einerseits in der Beschaffenheit des Substrates, andererseits in der Wuchsform der Pilze gegeben.

Glücklicherweise liegen die Verhältnisse so, daß die neue Methode vor allem in jenen Fällen unbrauchbar und unanwendbar wird, in denen die üblichen Verfahren vollkommen genügen, daß dagegen in schwierigeren Fällen, wo die bisherige Arbeitsweise versagt oder unbefriedigende Ergebnisse zeitigt, das neue Verfahren seine Leistungsfähigkeit und seine Vorteile offenbart.

1. Die Wuchsform der Pilze.

Da die Filme, einem Flächenschnitt vergleichbar, ein Aufsichtsbild liefern, muß die Abdruckmethode stets versagen, wo man sich, um ein anschauliches, brauchbares Bild zu gewinnen, nicht mit Flächenschnitten begnügt, sondern Querschnitte durch das befallene Organ herstellen wird (Albuginaceen, Exoascales, Exobasidiales, Uredineen und Ustilagineen). In einzelnen Fällen hat die Herstellung von Abdrucken auch deshalb keinen Sinn, weil die zu identifizierenden oder zur Darstellung zu bringenden Pilze am befallenen Objekt so dicht geballt vorliegen, daß jede sinnvolle Präparation auf deren Zerteilung hinauslaufen muß (Botrytis, Fusarium, Cladosporium, Monilia, Peronospora, Trichothecium, Verticillium usw.). Dies gilt selbstverständlich nur bei einem reichlichen Auftreten dieser Pilze, nicht aber bei deren spurenweisem Vorkommen etwa zu Beginn der Fruktifikation.

Im allgemeinen kann als Regel gelten, daß die Abdruckmethode meist erst mit Vorteil anzuwenden ist, wenn der Pilzbelag — nicht das Krankheitsbild — an der Grenze der Sichtbarkeit mit freiem Auge liegt.

Von den einzelnen Pilzgruppen sind neben den Mehltaupilzen vor allem die Mucedineen und Dematieen dem Abklatschverfahren zugänglich. Bei den Melanconieen kommt es in erster Linie auf den Reifezustand an. Allgemein ist die Methode auch bei Pilzen mit versenkten geschlossenen Fruchtkörpern zur Feststellung ausgestreuter Sporen an der Oberfläche des Pflanzenorgans anwendbar.

2. Festhaften der Pilze an der Unterlage.

Da das Verfahren auf dem Prinzip beruht, die den Pflanzen aufsitzenden Myzelien und Sporen in einem durchsichtigen erstarrenden Medium einzuschließen und mit dem festgewordenen Häutchen abzuheben, ist sie selbstverständlich nur dort anzuwenden, wo die Pilze nicht allzu fest mit dem Substrat verwachsen sind und das Abheben genügend leicht vor sich geht.

Die Filme geben daher mitunter kein vollständiges Bild; beispielsweise wird neben den Konidien nur ein Teil der Konidienträger abgehoben, jene dagegen, die mit der Unterlage fester verwachsen sind, bleiben auf dieser zurück (z. B. bei Microstroma juglandis, Cercospora cerasella, Fusicladium dendriticum).

Die Erfahrung hat gezeigt, daß zumindest ein Teil der Pilzzellen, die nach der Herstellung eines ersten Abzuges zurückbleiben, mit einem zweiten Häutchen abgehoben werden können.

Eine dritte Art der Begrenzung des Anwendungsbereiches der Abdruck-

methode ist durch die Beschaffenheit der Organoberfläche gegeben. Auf diese Fragen wird in Abschnitt IV näher eingegangen.

II. Die Herstellung der Abdruckpräparate und ihre mikroskopische Untersuchung.

Zur Herstellung der Oberflächenabdrucke werden geeignete Substanzen in gelöstem Zustand auf das zu untersuchende Organ mittels Pinsel oder Glas- oder Metallstäbchen aufgetragen. Das Aufbringen darf niemals durch kräftiges Bestreichen der Unterlage erfolgen, sondern der Glasstab bzw. Pinsel soll nur die Verteilung der Flüssigkeit erleichtern, ohne daß man womöglich die Oberfläche des Substrats selbst berührt. Bei Verwendung eines Pinsels ist die Gefahr, beim Verteilen der Lösung die natürliche Lagerung der Hyphen, Konidienträger und aufsitzenden Konidien zu zerstören, größer als bei Gebrauch eines Glasstabes. Auch wird ersterer durch Erstarren der anhaftenden Substanz an der Luft hart — will man ihn nicht in der Lösung selbst aufbewahren, was jedoch gleichfalls Nachteile mit sich bringt. Von einem Glasstab kann die angetrocknete Masse jederzeit leicht entfernt werden. Es wurde daher die Verwendung eines solchen vorgezogen.

Das Auftragen der Lösung soll womöglich in einem Strich erfolgen, um den Einschluß von Luftblasen tunlichst zu vermeiden. Über die notwendige Dicke der Flüssigkeitsschicht lassen sich keine allgemein gültigen Angaben machen; dies hängt nicht nur von der gewünschten Stärke der Häutchen ab, sondern auch vom Trockensubstanzgehalt der Lösung. Die Filme sollen im allgemeinen nur die Dicke eines Bruchteils eines Millimeters haben (etwa $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ mm bei Blattabdrucken). Die vorteilhafteste Stärke hat man nach wenigen Vorversuchen — ohne Dickenmessungen — ermittelt. Im allgemeinen haben dickere Filme den Vorteil, daß sie sich leichter vom Substrat abheben als dünne, was besonders bei solchen Substanzen bzw. Lösungen zu beachten ist, die verhältnismäßig fest an der Unterlage haften. Sie zeigen jedoch den Nachteil, daß es länger dauert, bis die aufgetragene Masse zu einem festen Film eintrocknet. Über die Notwendigkeit einer Anpassung der Häutchendicke an die Verschiedenheiten der Substrate vgl. Abschnitt IV.

Während man bei der Untersuchung der Abdrucke von Oberflächenstrukturen im allgemeinen ohne Einbettung arbeitet — die Filme liegen von Luft umgeben zwischen Objektträger und Deckglas —, ist es zum Auffinden und zur Untersuchung der eingeschlossenen Pilze empfehlenswert und vielfach sogar unbedingt notwendig, die Häutchen in Flüssigkeiten einzubetten, wobei es von besonderem Vorteil ist, ein Medium auszuwählen, in dem die Substanz quillt, ohne sich zu lösen, weil dadurch — unter Erhaltung der natürlichen Lageverhältnisse der Pilze — der störende Abdruck der Oberflächenstruktur für das Auge verschwindet und die Einschlüsse um so deutlicher hervortreten. Einbettung in Flüssigkeiten, die keine Quellung bewirken, ist weniger befriedigend, das Bild bleibt je nach der Stärke der Abdrucklinien mehr oder minder unübersichtlich. Vor allem werden ungefärbte Sporen und Hyphen leicht übersehen. Einbettung der ungequollenen Filme in dem besonders stark lichtbrechenden flüssigen Paraffin bringt zwar gleichfalls den größten Teil der Abdruckzeichnung für das Auge zum Verschwinden, gibt aber meist wenig gute, flaue Bilder. Schmidt (1924) bettete die Zelloidinhäutchen in Wasser ein; dabei bleibt jedoch der Abdruck der Zellgrenzen und Kutikularstrukturen ziemlich stark sichtbar. Besser ist verdünntes Glyzerin. Neuwirth (1929) und Buscalioni und Pollacci (1901) mikroskopierten ohne jede Einbettung!

Da es für eine exakte Längenbestimmung von Sporen, Konidienträgern usw. selbstverständliche Voraussetzung ist, daß diese mit ihrer Längsachse parallel zur Bildfläche liegen, sind in festen oder gequollenen Häutchen eingeschlossene Pilze zur Vornahme solcher Messungen schlecht geeignet. Es ist nötig, die Filme aufzulösen und durch einen entsprechenden Druck auf das Deckglas die Hyphen und Sporen in die gewünschte Lage zu bringen. Dabei kann ausschließlich mit wasserlöslichen Substanzen gearbeitet werden, da die Pilze nur in Wasser aufquellen und die Normalform zeigen (vgl. Abschnitt III unter Gummi arabicum), während Filme, die in organischen Solventien löslich sind, die Pilze in dem Zustand wiedergeben, wie sie am Substrat vorliegen, vielfach also auch geschrumpft. Daß die Schrumpfung nicht durch die angewandten Lösungen hervorgerufen wurde, zeigt die vergleichende Untersuchung in flüssigem Paraffin.

Häutchen aus wasserlöslichen Substanzen werden vorteilhaft in verdünntem Glyzerin als Dauerpräparat aufbewahrt (etwa 2 Vol.-Teile Glyzerin + 1 Teil

Wasser). Zur Einbettung von Filmen, die in Alkohol gequollen sind, ist konzentriertes Glyzerin zu verwenden, da mit verdünntem durch Ausfällung der wasserunlöslichen Substanzen störende Trübungen entstehen. Die Umrandung der Deckgläser erfolgt mit eingedicktem Venezianerterpentin.

III. Substanzen zur Herstellung der Abdruckpräparate.

Neben Zelloidin[1]) wurden die folgenden in organischen Solventien löslichen Zellulosederivate auf ihre Eignung untersucht: Methyl-, Äthyl-, Oxyäthylpropyl- und Acetylzellulose. Außerdem prüfte ich Gelatine, Gummi arabicum und einen gleichfalls wasserlöslichen Zelluloseglykoläther.

A. Anforderungen an die Lösungen und Filme.

Die Lösungen müssen vor allem eine ausreichende Benetzungsfähigkeit besitzen und dürfen bei möglichst hohem Trockensubstanzgehalt nicht zu viskos sein, damit das Aufbringen auf die zu untersuchenden Oberflächen keine Veränderungen in der Lage der durch die Häutchen einzuschließenden Pilze hervorruft. Je höher der Trockensubstanzgehalt ist, um so geringer kann die Schichtdicke gewählt werden und um so rascher tritt auch Erstarren ein.

Die Filme selbst sollen nicht brüchig, sondern geschmeidig und fest sein, ihre Form bewahren, nicht schrumpfen, wellen oder knittern und selbst unter dem Einfluß von Wasserdampf möglichst klar und durchsichtig bleiben, um neben der Beobachtung der eingeschlossenen Pilze auch die Untersuchung des Abdruckes der Oberflächengestaltung zu ermöglichen.

Um ein rasches Arbeiten zu gewährleisten, ist erwünscht, daß das Verdunsten der Lösungsmittel und damit das Erstarren zu einem festen Film möglichst rasch erfolgt. Wesentlich ist auch, daß die Häutchensubstanzen in wenig flüchtigen Flüssigkeiten, die auch sonst keine unangenehmen, nachteiligen Eigenschaften aufweisen, quellen (Abschnitt II).

B. In organischen Solventien lösliche Stoffe.

1. Zelloidin (Kollodiumwolle)[2]) ist ein schwach nitriertes Zellulosederivat, das hauptsächlich aus Dinitrozellulose besteht.

Es wurde ausschließlich als Zelloidin-Schering („wasserfrei für die histologische Technik") verwendet. Zur Prüfung der verschiedenen Solventien ging ich von getrocknetem, in kleine Würfel geschnittenem Zelloidin aus, das sich allerdings bedeutend langsamer löst als das alkoholhaltige gelartige Produkt, wie es in den Blechdosen vorliegt. (Vorsicht bei der Aufbewahrung von getrocknetem Zelloidin!)

Methylalkohol gibt hochviskose Lösungen; die daraus gewonnenen Häutchen knittern übrigens sehr stark. Azeton ist zwar eines der besten Lösungsmittel, noch 6—7proz. Lösungen sind verhältnismäßig wenig viskos; doch sind die Abdrücke trüb und undurchsichtig. Zelloidin in Essigsäureäthylester (5—6proz.) liefert durchsichtig klare Filme, die sich im allgemeinen vom Substrat leicht abheben; leider quellen sie in Alkohol nicht auf, so daß das Bild recht unübersichtlich bleibt, ein Nachteil gegen die Zelloidinhäutchen aus Alkoholäther. Gemische aus Essigsäureäthylester und Alkohol bzw. Äther brachten keinen wesentlichen Vorteil.

Zelloidin in Alkohol-Äther-Gemischen ist die älteste Anwendungsform dieser Substanz.

In der Medizin fand diese als Kollodium bezeichnete Lösung früher vielfach zum Verschluß kleiner Wunden Verwendung. Während sich nämlich ein Zelloidin-

---

[1]) Zelloidin wurde mir von der Schering-Kahlbaum A.-G., Berlin, zur Verfügung gestellt; die übrigen Zellulosederivate verdanke ich dem Entgegenkommen von Herrn Prof. K. Heß-Berlin, sowie der I. G.-Farbenindustrie, A.-G., Ludwigshafen a. Rhein.

[2]) Als „Kollodium" wird eigentlich die Lösung von Kollodiumwolle (nitrierte Zellulose) in Alkohol-Äther bezeichnet, während „Zelloidin" die in Alkohol gequollene Masse von Kollodiumwolle bedeutet (durch Abdestillieren des Äthers einer alkoholätherischen Kollodiumlösung hergestellt). Es ist jedoch vielfach üblich, die aus Nitrozellulose bestehende Trockenmasse selbst als Kollodium oder Zelloidin zu bezeichnen; in diesem Sinne wird auch in dieser Mitteilung von Kollodium- oder Zelloidinhäutchen gesprochen.

überzug von einem Blatt sehr leicht ablöst, haftet er an der menschlichen Haut sehr fest. Die eigenen Untersuchungen wurden hauptsächlich mit 5—5,5proz. Zelloidin in Alkohol-Äther 1 : 2 (Vol.-Teile) durchgeführt. Auch das von Long und Clements (1934) bei oberflächenanatomischen Untersuchungen an Blättern verwendete Mischungsverhältnis 1 : 3 ist gut brauchbar, es gibt weniger viskose Lösungen. Eine nur 2proz. Kollodiumlösung, mit welcher Neuwirth (1929) arbeitete, ergab unbefriedigende Resultate, da sie viel zu wenig Trockensubstanz enthält und verhältnismäßig sehr dünnflüssig ist, so daß man bei nur einmaligem Auftragen der Masse sehr dünne Häutchen erhält, die leicht zerreißen; auch tritt mit solchen dünnflüssigen Lösungen häufig eine Schädigung zarter Objekte ein. Nur zur „Fixierung" von Fruktifikationsorganen, die beim Auftragen dickflüssigerer Lösungen leicht zerstört werden könnten, empfiehlt sich vorerst die Anwendung von dünnflüssigem Kollodium — um die natürlichen Lageverhältnisse von Konidienträgern und Konidien zu erhalten; man überschichtet dann mit einer dickflüssigeren Lösung, um ein festes Häutchen zu erzielen. Im allgemeinen wird man mit der Konzentration nicht unter 4% heruntergehen.

Zelloidinfilme aus Alkohol-Äther weisen den Nachteil auf, daß sie schrumpfen und sich wellen; dies kommt besonders bei größerer Dicke unangenehm zur Auswirkung, da sie dann nur schwer oder überhaupt nicht plan gepreßt werden können, wie es für die mikroskopische Untersuchung notwendig ist. Aus anderen Substanzen hergestellte Abdrucke von normaler Dicke zeigen diese unerwünschte Eigenschaft nicht; sie bleiben auch bei beliebig starkem Eintrocknen plan. Das gleiche gilt auch für Zelloidin aus Essigsäureäthylester. Dieser Nachteil von Zelloidin aus Alkohol-Äther läßt sich durch Verwendung alkoholreicher und möglichst konzentrierter Lösungen und durch Herstellung dünner Häutchen vermindern. Weiter müssen diese schon vom Substrat abgenommen werden, wenn ihr Rand sich nach dem Trocknen eben von selbst abzuheben beginnt; es ist notwendig, sie sofort zwischen Glasplatten (Objektträgern) plan zu pressen.

Endlich besteht die Möglichkeit, durch Zusatz von Weichmachungsmitteln die Bildung schmiegsamer, nicht schrumpfender, plan bleibender Zelloidinhäutchen zu erzielen. Vor allem für Zwecke der Filmbandherstellung werden eine Reihe solcher Mittel erzeugt. Die Prüfung zweier einschlägiger Präparate (Trikresylphosphat und Palatinol der I. G.-Farbenindustrie, A.-G.) ließ für unsere Zwecke keine merklichen Vorteile gegenüber Rizinusöl, das für diese Zwecke am längsten bekannt ist, erkennen. Dieses wird schon seit langem in der Pharmazie zur Herstellung des „Collodium elasticum" verwendet, mit welchem man das lästige Spannen gewöhnlicher Kollodiumhäutchen auf der Haut vermeidet. Nach der deutschen Pharmakopoë wird Rizinusöl in der Höhe der halben Gewichtsmenge der Zelloidintrockenmasse zugesetzt. Diese auch von Gaillard verwendete Menge stellt jedoch die obere Grenze dar: Die Abzüge sind völlig plan und sehr geschmeidig; es bieten sich aber bei manchen Objekten bereits Schwierigkeiten hinsichtlich des Abhebens vom Substrat. Mit noch höheren Mengen Rizinusöl werden die Filme klebrig, bei einem Zusatz von bloß einem Drittel des Zelloidingewichts sind Nachteile noch kaum merklich, die Häutchen wellen sich allerdings noch ein wenig, was aber nahezu bedeutungslos ist. Jedenfalls reichen 40% Rizinusöl stets aus. Ein Zusatz von nur 10%, den Buscalioni und Pollacci (1901) empfehlen, bedingt wohl eine kenntliche, aber noch ganz ungenügende Verbesserung der Eigenschaften. Neuwirth spricht von einer Zugabe von Rizinusöl in Höhe von 5—50%; 5% ist für unsere Zwecke nahezu ohne Wirkung.

Daß die Feinheiten der Oberflächengestaltung durch den Zusatz des Weichmachungsmittels etwas weniger scharf wiedergegeben werden, ist bei der Untersuchung epiphytischer Pilze ohne Bedeutung, die stärkere Neigung zu Trübungen der Filme unter dem Einfluß von Wasserdampf wirkt sich mitunter störend aus.

Eine Beigabe von Weichmachungsmitteln ist selbstverständlich nur bei der Untersuchung solcher Objekte von Vorteil, bei denen sich der Zelloidinabdruck leicht abhebt und dabei knittert. Bei rauhen Oberflächen (z. B. Äste), an denen schon ein Häutchen aus reinem Zelloidin sehr fest haftet, hat selbstverständlich ein Zusatz von Rizinusöl keinen Sinn, da das Loslösen dadurch nur erschwert würde.

Zur Aufhellung dunkelwandiger Pilzzellen oder Zellaggregate (z. B. Macrosporium-Konidien von Zwiebelblättern) setzt man nach Gaillard Milchsäure (50% des Zelloidintrockengewichts) zu; doch lassen sich solche milchsäurehaltigen Zelloidinfilme nur schwer von der Unterlage abheben und neigen sehr zur Ausbildung von Trübungen. Da auch durch Einbringen in Medien von entsprechend hoher Lichtbrechung (z. B. flüssiges Paraffin) eine genügende Aufhellung erzielt werden kann, ist es überflüssig, Milchsäure zu verwenden.

Zur Einbettung der Zelloidinhäutchen für die mikroskopische Untersuchung kommt in erster Linie Alkohol in Betracht, da sie darin quellen ohne sich zu lösen. Dabei zeigen sich jedoch zwei wesentliche Nachteile: 1. Schrumpfen des Plasmas großzelliger Pilze (z. B. Erysipheen). 2. Die Querwände treten bei Alkoholeinbettung viel weniger scharf hervor als in Wasser oder verdünntem Glyzerin, z. T. verschwinden sie fürs Auge überhaupt. Wenngleich sich in allen untersuchten Präparaten mehrzelliger Konidien stets ein kleiner Teil vorfand, die die Unterteilung erkennen ließen, ist es dennoch notwendig, sich dieses Umstandes bewußt zu sein, um in zweifelhaften Fällen eine genaue Prüfung durchzuführen. Bei Einbettung der Zelloidinfilme in Wasser — wobei jedoch die Abdrucke der Zellgrenzen der Epidermis sehr stören — sind die Sporenquerwände viel deutlicher zu sehen als in Alkohol, die schlechte Sichtbarkeit ist also hauptsächlich erst eine Folge der Alkoholeinbettung, nicht schon des Einschlusses in Zelloidin (Beispiele: Konidien von Actinonema rosae, Cercospora cerasella, C. beticola, Fusicladium dendriticum).

2. Mit Methylzellulose, die in Chloroform und Benzol löslich ist, wurde nur wenig gearbeitet. Es waren keine Vorteile gegenüber anderen Substanzen zu erkennen.

3. Azetylzellulose kommt für eine Verwendung kaum in Frage, da sowohl die Lösungen in Azeton wie auch in Alkohol-Benzol-Azeton (1 : 1 : 1) trübe Häutchen geben. In anderen Solventien war die Löslichkeit des vorliegenden Präparates ungenügend.

4. Oxyäthylpropylzellulose (in Folienform erhalten, I. G.-Farbenindustrie, A.-G.) war in Essigsäureäthylester (5proz.) oder Chloroform (6proz.) gelöst recht brauchbar. Die Lösung in Benzol ist zu viskos, um vorteilhaft angewendet werden zu können. Aus Azeton, 96proz. Alkohol, Alkohol-Äther und Alkohol-Benzol erhält man mehr oder minder trübe Abdrucke. Die Filme aus diesem Zelluloseäther sind genügend fest, schrumpfen nicht und bleiben plan. Das Abheben geht weniger leicht vor sich als etwa von Äthylzellulosefilmen aus Essigsäureäthylester oder Benzol.

5. Äthylzellulose erwies sich neben Zelloidin von allen Zellulosederivaten am geeignetsten. Diese Substanz war in sämtlichen geprüften organischen Solventien leicht löslich. Aus Azeton, Äther, Alkohol und Alkohol-Äther entstehen mehr oder minder trübe Filme. Durchsichtig-klare, feste, nicht schrumpfende und plan bleibende Häutchen werden aus Lösungen von Essigsäureäthylester (5—6proz.), Chloroform (7—8proz.) und Benzol (6—7proz.) erhalten. Äthylzellulose ist ebenso wie Oxyäthylpropylzellulose in den drei letzteren Lösungsmitteln gegen die Einwirkung von Wasserdampf sehr unempfindlich, weit unempfindlicher jedenfalls als Zelloidin aus Alkohol-Äther. Die Benetzungsfähigkeit der Lösungen von Äthylzellulose ist meistens ausreichend, das gleiche gilt auch für die anderen in organischen Solventien gelösten Substanzen. Das Abheben der Äthylzellulosehäutchen aus Essigsäureäthylester erfolgt leicht, auch bei denen aus Benzol noch in ausreichendem Maße, während aus Chloroform die Filme an der Oberfläche mancher Blätter stärker haften. Um das Abdruckbild bei der mikroskopischen Untersuchung zum Verschwinden zu bringen, bettet man die Häutchen, ebenso wie jene aus Oxyäthylpropylzellulose, in etwa 60proz. Alkohol (zum Aufquellen) ein. Durch die Einwirkung des Wassers kommt es allerdings nach wenigen Minuten zu störenden Ausfällungen (Trübungen). 96proz. Alkohol löst beide Substanzen.

C. Wasserlösliche Stoffe.

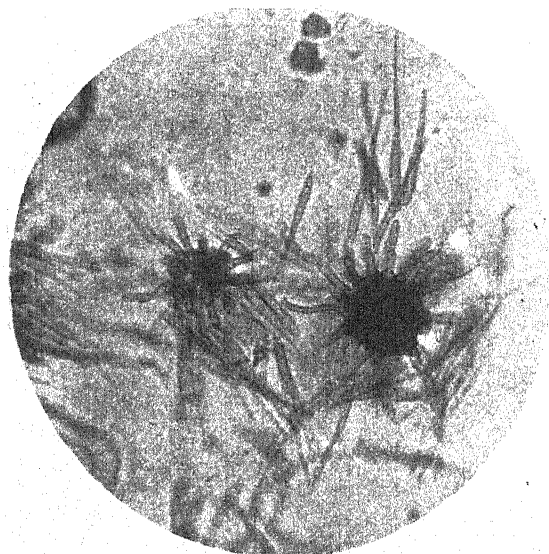
1. Zelluloseglykoläther konnte in höchstens 1,5proz. Lösung angewendet werden, da höhere Konzentrationen zu viskos sind. An sich haben die Filme recht gute Eigenschaften: Sie sind durchsichtig, genügend fest, dabei weich, schrumpfen und knittern nicht. Die Benetzungsfähigkeit der wässrigen Lösung ist jedoch sehr gering. Noch wesentlicher ist der Nachteil, daß das wassergelöste Präparat wegen des geringen Trockensubstanzgehalts in sehr dicker Schicht aufgetragen werden muß, um ausreichend feste Häutchen zu erzielen. Zelluloseglykoläther ist daher für die Herstellung von Abklatschpräparaten nicht zu brauchen.

2. Gelatine und Agar sind in Konzentrationen, die für die Herstellung von Abdrucken in Frage kommen, nur bei höherer Temperatur in flüssiger Form darstellbar. Ihrer Anwendung haftet also von vornherein der Nachteil an, daß sie vor Verwendung durch Hitze verflüssigt werden müssen. Da Agar schon bei verhältnismäßig hoher Temperatur zu erstarren beginnt, wurde er nicht weiter berücksichtigt.

Am vorteilhaftesten erwies sich die Verwendung von Gelatine in etwa 17—20proz. Konzentration (17—20 g trockene Gelatine in 100 ccm Wasser gelöst). 10- und 14proz. Lösungen sind in der Hitze zu dünnflüssig, erstarren zu langsam, müssen in größerer Schichtdicke aufgetragen werden und benetzen auch bedeutend schlechter als höher konzentrierte. 30proz. dagegen ist Gelatine bereits zu viskos und erstarrt zu rasch. Zur Verhütung einer Schimmelpilzentwicklung muß etwas Toluol oder Thymol zugesetzt werden.

Die Benetzungsfähigkeit einer 20proz. Gelatinelösung ist bei den meisten Objekten ausreichend, wenn sie auch die von Zellulosederivaten in organischen Solventien nicht erreicht. Der hohe Trockensubstanzgehalt macht es möglich, die flüssige Gelatine nur in verhältnismäßig dünner Schicht auftragen zu müssen, um noch ausreichend feste Häutchen zu erzielen.

Es genügt nicht, das Gelatinesol bloß zum Gel erstarren zu lassen, was schon nach wenigen Minuten erfolgt ist. Erst nach etwa $^3/_4$ Std. ist bei normaler Dicke die Schicht durch Wasserabgabe soweit erhärtet, daß sie vom Substrat abgehoben werden kann. Bei sehr dicken Abdrucken dauert das Erhärten 1—1$^1/_2$ Std., sehr dünne sind schon nach $^1/_2$ Std. fest. Ein allzu starkes Eintrocknen ist zumindest bei dicken Filmen von Nachteil, da sie sich etwas wellen, hart werden und in der Umgebung der eingeschlossenen Pilzhyphen Luft auftritt, die nur z. T. wieder vertrieben werden kann und sehr störend wirkt. (Beim Eintrocknen zieht sich die Gelatine zusammen und hebt sich von den Einschlüssen ab; dadurch entstehen kleine Hohlräume.) Bei normaler Schichtdicke sind die Häutchen ausgezeichnet brauchbar, fest und dabei schmiegsam und plan liegend, auch wenn sie längere Zeit eintrockneten.

Abb. 1. Cercospora cerasella. Konidienbildung. Gelatineabdruck von Kirschenblatt. Gute Sichtbarkeit der Querwände. Etwa 250fach vergrößert.

Das Abheben der Abdrucke erfolgt im allgemeinen recht leicht. Allerdings machte es sich mitunter unangenehm bemerkbar, daß bei manchen Blattfleckenerkrankungen (z. B. Ramularia spinaciae auf Spinatblättern) die spröden Mittelteile der abgestorbenen Flecken an dem Gelatinefilm so fest haften blieben, daß sie selbst durch Abkratzen nicht vollkommen zu entfernen waren.

Vor dem Einbetten in Wasser werden die Gelatinehäutchen vorteilhaft ganz kurz in Alkohol eingetaucht, wodurch ein großer Teil der eingeschlossenen Luftblasen verdrängt und die Benetzbarkeit durch Wasser wesentlich verbessert wird. In Wasser quillt die Gelatine auf, wodurch sich leichte Wellungen ausgleichen und die störenden Einzelheiten des Abdruckbildes verschwinden. Die Wassereinbettung bringt auch noch den Vorteil, daß die Pilze das gewohnte turgeszente Aussehen annehmen (z. B. bei Fusicladium-Konidien sehr auffallend im Vergleich zu Präparaten in Zelloidin oder flüssigem Paraffin). Als weiterer Vorteil der Präparation in Gelatine oder anderen wasserlöslichen Stoffen, bzw. der Einbettung in Wasser, ist zu betonen, daß die Querwände der eingeschlossenen Hyphen und Sporen (z. B. Fusicladium- oder Cercospora-Arten, Abb. 1) bedeutend klarer und schärfer hervortreten als bei der Alkoholeinbettung jener Filmsubstanzen, die nur in organischen Solventien löslich sind.

Gelatineabdrucke haben gegenüber Kollodium oder anderen in organischen Lösungsmitteln vorliegenden Substanzen auch den weiteren Vorteil, daß ein Schrumpfen

des Zellinhalts (Trübung), wie es mit den letzteren Mitteln eintritt, vermieden werden kann, wodurch das Bild unvergleichlich schöner und natürlicher wirkt (z. B. bei Erysipheen).

Es sei an dieser Stelle darauf verwiesen, daß die dieser Arbeit beigegebenen Abbildungen im Hinblick auf die angeführten Vorzüge der Gelatinepräparate, die natürliche, anschauliche Bilder liefern, durchweg von solchen stammen (Abb. 2).

Zur Herstellung von Dauerpräparaten werden die in Wasser gequollenen Filme am besten in verdünntem Glyzerin (2 Vol. Glyzerin + 1 Vol. Wasser) eingeschlossen.

3. Gummi arabicum (Gummi acaciae). Nachdem schon Netolitzky (1926) Gummi arabicum zu Abdrucken von Oberflächenstrukturen empfohlen hatte, schlagen es neuerdings Buscalioni und Pollacci (1937) an Stelle von Zelloidin auch zur Herstellung von Präparaten zum Zwecke der Spaltöffnungsweitebestimmung vor.

Es mußte jedoch vor allem festgestellt werden, daß Gummi arabicum für sich allein zur Herstellung von Häutchen nahezu unbrauchbar ist: Die Filme sind — gleichgültig, ob dick oder dünn — sehr spröd und zerbrechen beim Abheben vom Substrat in kleine Teile. Es gelang, diesen Nachteil durch Zusatz von Glyzerin nahezu vollkommen aufzuheben. Wie Rizinusöl bei Kollodium, wirkt Glyzerin bei Gummi arabicum als Weichmachungsmittel. Die Filme verlieren ihre Sprödigkeit, werden schmiegsam und zähe, ohne jedoch die Festigkeit von Gelatinehäutchen zu erreichen. Ein Glyzerinzusatz in der Höhe von etwa 30% des Gummi arabicum-Trockengewichts erwies sich am vorteilhaftesten. Höhere Zusätze bewirken ein Klebrigwerden.

Abb. 2. Podosphaera leucotricha (Apfelmehltau). Oidienbildung. Gelatineabdruck von Apfelblatt. Plasma nicht geschrumpft. 330fach vergrößert.

Gummi arabicum ist noch bei einer Konzentration von etwa 35 g in 100 ccm (entspricht 35 g in etwa 70 ccm Wasser gelöst) gut aufzutragen. Weniger konzentrierte Lösungen lassen in ihrer Benetzungsfähigkeit zu wünschen übrig. Gummi arabicum steht diesbezüglich auch in der angegebenen günstigsten Konzentration hinter Gelatine zurück.

Um Quellung zu erzielen, erwies sich etwa 60proz. Glyzerin (6 Vol.-Teile Glyzerin + 4 Teile Wasser) geeignet. Vor dem Einbetten empfiehlt es sich, das Häutchen kurz in Alkohol einzutauchen, um eine bessere Benetzung zu erreichen.

Gummi arabicum ist in allen jenen Fällen die geeignetste Substanz, wo an den eingeschlossenen Pilzen genaue Größenmessungen durchgeführt werden sollen. Die Filme lösen sich schon bei gewöhnlicher Temperatur in Wasser auf und durch Druck auf das Deckglas sind die Pilze leicht in die gewünschte Lage zu bringen: Längsachse parallel zum Blickfeld. Gummi arabicum weist jedoch gegenüber Gelatine den Nachteil auf, daß das Festwerden der Masse bei gleicher Schichtdicke nahezu doppelt solange dauert.

D. Übersicht über die Verwendbarkeit der Substanzen.

In folgender Tab. 1 ist das Wesentlichste über die zur Herstellung von Abdrucken in Betracht kommenden Lösungen zusammengestellt, unter Angabe der geeignetsten Konzentrationen, der wichtigsten Eigenschaften sowie der Vor- und Nachteile.

Tabelle 1.

Substanz	Lösungs- mttel	Kon- zentration	Zusätze (Weich- machungs- mittel)	Be- netzungs- fähigkeit	Abheben der Häutchen v. Substrat	Trübung durch Wasserdampf
Gelatine	Wasser	17—20%	—	gut	leicht	keine
Gummi arabicum	Wasser	35%	30% Glyzerin	mäßig	etwas schwierig	,,
Zelloidin	Alkohol (1 Vol.) + Äther (2—3 Vol.)	5%	—	sehr gut	sehr leicht	verhältnis- mäßig stark
			30—40—(50)% Rizinusöl	,,	mittel	verhältnis- mäßig sehr stark
	Essigsäure- äthylester	5—(6)%	—	,,	leicht	mäßig
Äthyl- zellulose	Essigsäure- äthylester	6—7%	—	,,	mittel	sehr gering
	Chloroform	(7)—8%	—	,,	schwierig	,,
	Benzol	6—7%	—	,,	ziemlich schwierig	,,
Oxyäthyl- propyl- zellulose	Essigsäure- äthylester	5%	—	,,	schwierig	,,
	Chloroform	6%	—	,,	,,	,,

Welche der Substanzen bzw. welches Lösungsmittel zu verwenden ist, hängt im wesentlichen von den gestellten Aufgaben ab. Kommt es in erster Linie darauf an, möglichst rasch die Identifizierung etwa von Blattfleckenkrankheiten durchzuführen, so wird man in Alkohol-Äther gelöstes Zelloidin verwenden, evtl. ohne Zusatz von Weichmachungsmitteln. Auch in den Fällen, wo man Wert darauf legt, die Pilze in jenem Zustand wiederzugeben, in dem sie auf dem Substrat vorliegen, also evtl. geschrumpft, können nur in organischen Solventien lösliche Substanzen verwendet werden, womöglich in Lösungsmitteln wie Benzol, die nicht wasserentziehend wirken. Auch bei der Einbettung müßte darauf Rücksicht genommen werden.

Kommt es dagegen darauf an, die Pilze in möglichst natürlicher Form zu zeigen, so wird man Gelatine wählen, in zweiter Linie kommt Gummi arabicum in Betracht.

Tabelle 1.

Eigenschaften der Häutchen	Quellbar in	Schädigung der Pflanzen	Besondere Vorteile	Nachteile
plan, nicht schrumpfend	Wasser	keine	hoher Trockensubstanzgehalt der Lösung, ausgezeichnete Wiedergabe der Pilze	Auflösen in der Wärme notwendig
,,	Glyzerin zu Wasser = 6 : 4 Vol.-Teile	,,	hoher Trockensubstanzgehalt, ausgezeichnete Wiedergabe der Pilze zur Größenmessung sehr geeignet	nicht immer ausreichende Benetzungsfähigkeit, langsames Erstarren der Masse
stark schrumpfend und wellend	96proz. Alkohol	sehr gering	besonders leichtes Abheben der Häutchen, rascheste Herstellung von Abdruckpräparaten	Wellen u. Schrumpfen der Häutchen
plan, nicht schrumpfend	,,	gering	einzige plane Häutchen liefernde Substanz, die in (96%) Alkohol quillt	starke Neigung zu Trübungen bei Wasserdampfeinwirkung
,,	—	mäßig	—	kein Quellen in Alkohol
,,	60proz. Alkohol	,,	sehr geringe Empfindlichkeit der Häutchen gegen Wasserdampf	Ausfällungen nach dem Quellen
,,	,,	sehr stark	,,	Ausfällungen nach dem Quellen, verhältnismäßig schwieriges Abheben der Häutchen vom Substrat
,,	,,	,,	,,	Ausfällungen nach dem Quellen
,,	,,	mäßig	,,	Ausfällungen nach dem Quellen, schwieriges Abheben der Häutchen
,,	,,	sehr stark	,,	,,

IV. Die Abhängigkeit der Abdruckmethode vom Substrat.

Am besten lassen sich Blätter nach der Abdruckmethode bearbeiten, denn die Häutchen lösen sich von biegsamen Organen am leichtesten ab. Gewisse Schwierigkeiten stellen sich nach Schädigungen durch organische Lösungsmittel (insbesondere Chloroform und Benzol) ein, die bei zarten Organen am häufigsten sind: da dadurch die Wasserabgabe gesteigert wird, treten mitunter stärkere Trübungen der empfindlicheren Substanzen (Zelloidin) ein, durch die zumindest einzelne Stellen undurchsichtig werden; man muß den Film auflösen, um die eingeschlossenen Pilze beobachten zu können. Einbettung in quellende Flüssigkeiten genügt nicht, um die Trübungen zum Verschwinden zu bringen. Die Verwendung wasserlöslicher Stoffe hilft über diese Schwierigkeiten restlos hinweg; ist das Substrat, von dem der Abdruck hergestellt werden soll, etwas feucht, so kommen ausschließlich nur diese in Betracht.

Auf den Organen aufsitzende Haare erschweren das Abheben der Häutchen; feinere werden mit einem entsprechend starken Film von der Unterlage abgerissen, dichter Haarbelag macht die Anwendung der Abklatschmethode unmöglich. Ungünstige Verhältnisse zeigen auch Blätter mit stark hervortretenden Nerven, da in diesen Fällen die Häutchen stellenweise sehr dick werden und sich schwer abheben (z. B. Labiaten).

Manche Blätter — insbesondere getrocknete (Pisum, Acer, Vitis) oder solche mit Wachsüberzug (Iris, Gramineen) — bieten durch ihre schlechte Benetzbarkeit Schwierigkeiten. Einerseits hilft die Auswahl geeigneter Lösungen, andererseits ermöglicht ein vorheriges Benetzen mit verdünntem Alkohol (50—70%) meist auch das Auftragen wassergelöster Substanzen.

Von sehr rauhen, rissigen Rinden (Eiche) ist die Herstellung von Abdrucken nicht möglich; die eingetrocknete Schicht haftet derart fest, daß sie sich auch mit einer Pinzette nur in Form kleiner Fetzen abheben läßt. Glatte Rinden (Kirsche) sowie glattschalige Früchte und Knollen bieten keine besonderen Schwierigkeiten. Allerdings geht das Ablösen infolge der Starrheit des Substrates weniger leicht als von biegsamen Blättern. Bei Oberflächen, von denen sich die Filme nur schwer abheben, ist es vorteilhaft, die Lösung dicker aufzutragen als gewöhnlich, um stärkere Häutchen zu erzielen. Bei Objekten mit gewölbter Oberfläche, von der eine dickere Flüssigkeitsschicht abfließt, empfiehlt es sich, noch eine zweite Schicht aufzubringen, nachdem die erste nahezu angetrocknet ist. Auf diese Weise gelang es, auch von ziemlich rauhen Rinden (grindige Birnzweige) für die mikroskopische Untersuchung brauchbare Abklatschpräparate herzustellen; die Fusicladium-Konidien waren auf diesem Wege bei geringer Fruktifikation sicherer und einfacher aufzufinden als im Schabepräparat. Da Gelatine schon bei einmaligem Auftragen eine ziemlich dicke Schicht gibt, ist ihre Anwendung bei der Untersuchung von rauhen und gewölbten Substraten vorteilhaft.

V. Vorteile der Abdruckmethode.

Nachdem bereits verschiedentlich nicht nur auf die Grenzen, sondern auch auf die Nachteile der Abdruckmethode (bzw. bestimmter Substanzen) hingewiesen wurde, seien nunmehr einige Beispiele angeführt, in denen sie ihre Leistungsfähigkeit zeigte und ihre Überlegenheit bewies. Das Material stammte hauptsächlich aus dem Einlauf der Staatsanstalt für Pflanzenschutz, Wien.

Nachweis geringfügigen Pilzauftretens. Auf Rosenblättern ergab das Vorhandensein kleiner roter Flecken den Verdacht eines jungen Pilzbefalles; doch war auch bei Lupenvergrößerung keinerlei Belag an der Oberfläche der Blätter festzustellen; Zupf- und Schabepräparate und Schnitte ließen gleichfalls nichts erkennen. Im Zelloidinabzug jedoch zeigte das Vorhandensein einzelner Myzelfäden sowie eine beginnende Oidienbildung den Befall durch Sphaerotheca pannosa an. Ähnlich zeigte sich die Überlegenheit des Abklatschverfahrens beim Nachweis geringfügiger Pilzvorkommen in zahlreichen anderen Fällen: Cercospora violae und Ramularia lactea auf Veilchenblättern, Cercospora cerasella und Clasterosporium carpophilum auf Kirsche und Weichsel, Erysiphe cichoriacearum auf Gurkenblättern, Helminthosporium auf Getreide, Macrospo-

rium solani auf Kartoffellaub, Peronospora sparsa auf Rosen, Pseudopeziza tracheïphila (Konidienfruktifikation) auf Weinblättern usw.

Ganz besonders brauchbar erwies sich die Abdruckmethode zur Untersuchung geringfügiger Pilzvorkommen auf Herbarpflanzen. Bei seltenem, wertvollem Material kann auch die Schonung bei der Aufarbeitung nach diesem Verfahren von Vorteil sein.

Die Herstellung eines Abzuges bietet die sichere Gewähr, daß alle der Oberfläche aufgestreuten Sporen sich im Häutchen wiederfinden, genau in der Lage, in der sie auf dem Substrat vorhanden waren. Gerade darin liegt ein hoch einzuschätzender Vorteil: Da wir fast auf jedem Pflanzenorgan zufällig angewehte Pilzsporen antreffen, kommt es auf die Menge und vor allem auf ihre Anordnung an. Zeigen die Abdrucke, daß sich mit Regelmäßigkeit an Blattflecken oder in deren unmittelbarer Nähe zahlreiche gleichartige Sporen vorfinden, so darf angenommen werden, daß sie an diesen Flecken ausgebildet wurden. Dies kommt insbesondere für Pykniden-Pilze in Betracht. Zwei einschlägige Beispiele, in denen die Diagnose nur mehr mit Hilfe von Abdrucken möglich war: Phyllosticta aceris auf Blättern von Acer campestre und Septoria phlogis auf Phlox mit bereits völlig leeren Pykniden. Sporen waren nur mehr auf der Oberfläche der Blätter an den Flecken vorzufinden; in Schabe- und Schnittpräparaten gingen sie gegenüber der Masse dunklen Gewebes verloren.

Die Abdruckmethode ist auch vorteilhaft anzuwenden, wenn es sich darum handelt, die Abwesenheit epiphytischer Pilze zu zeigen.

Das Verfahren hat sich so brauchbar erwiesen, daß ich zur Bestimmung der Krankheitserreger auf gesammeltem oder eingesandtem Pflanzenmaterial schon seit Jahren fast stets als erstes einen Zelloidinabzug herstelle — sofern der Pilzbelag, bzw. die Fruktifikationsorgane (z. B. Pykniden) nicht schon makroskopisch erkennbar und im Schabe-, Quetsch- oder Zupfpräparat am schnellsten zu bestimmen sind.

Abb. 3. Cercospora cerasella. Übersichtsbild von der Konidienbildung an einer befallenen Blattstelle. Gelatineabdruck eines Kirschenblattes. Etwa 40fach vergrößert.

Serienuntersuchungen. Bei der Untersuchung eines umfangreichen Materials von Kirschen- und Weichselblättern auf das Vorkommen von Clasterosporium carpophilum und Cercospora cerasella (Abb. 1 und 3), die ähnliche Blattflecken hervorrufen, bedeutete die Verwendung der rasch erstarrenden und leicht abhebbaren Zelloidinhäutchen, wie in vielen anderen Fällen eine wesentliche

Arbeits- und Zeitersparnis. Die Herstellung beliebig großer Abdrucke gestattet es, in kürzester Zeit eine Vielzahl von Blattflecken zu prüfen. Die durch mehrere Jahre fortgesetzten Untersuchungen zahlreicher Proben aus Nieder- und Oberdonau, die im Sommer gesammelt wurden, ergaben, daß Cercospora cerasella weit häufiger als Clasterosporium carpophilum vorkommt und in Baumschulen nahezu ausschließlich der Erreger der sehr häufigen Dörrfleckenkrankheit ist.

Sonderaufgaben. H. Wollenweber bemerkt im Sorauerschen Handbuch der Pflanzenkrankheiten (Bd. III, 5. Aufl., S. 639), daß es nicht bekannt ist, ob die Konidien bei der Gattung Ramularia akropetal oder basipetal entstehen. Die Schwierigkeit liegt darin, daß sie meist sehr frühzeitig abfallen. Gerade das Abklatschverfahren ermöglicht es bei vorsichtiger Arbeitsweise, die in Betracht kommenden Stadien zu „fixieren". Abb. 4 gibt einen solchen Abdruck von Ramularia spinaciae wieder. Zum Teil werden an der Spitze ausgewachsener (aber noch unseptierter) Konidien neue gebildet, andererseits konnten auch Stadien beobachtet werden, wo die größere Konidie an der Spitze lag und basipetal eine neue zur Ausbildung gelangte.

Abb. 4. Ramularia spinaciae. Konidienbildung. [Gelatineabdruck von einem Spinatblatt. Ältere, bereits septierte Konidien sind in diesem Abdruck nicht zu sehen. Etwa 330fach vergrößert.

Endlich sei darauf verwiesen, daß das Abklatschverfahren zum Studium der Sporenkeimung mit bestem Erfolg herangezogen werden kann [Schmidt (1924)] und auf diesem Gebiete mehr als die meisten anderen Methoden zu leisten vermag. Im Hinblick auf das nicht immer vollständige Ablösen der Pilze vom Substrat ist jedoch gerade bei diesen Versuchen Vorsicht und kritische Auswertung erforderlich. Eventuell ist in solchen Fällen auch das Abdruck- (Negativ-) Bild heranzuziehen.

Abdruckpräparate zu Demonstrationszwecken. Ein ausgezeichnetes Hilfsmittel stellen die Abdrucke in allen jenen Fällen dar, wo die Pilze etwa zu Unterrichtszwecken in ihrer natürlichen Anordnung wiederzugeben oder kompliziert aufgebaute Fruktifikationsorgane zur Darstellung zu bringen sind, z. B. Sphondylocladium atrovirens (Silberfleckenkrankheit der Kartoffelknollen). Die Konidien fallen bei Einbettung von Schnitten unter dem Deckglas selbst bei vorsichtigster Präparation sehr leicht von den Trägern ab. Abklatschpräparate von den Silberflecken zeigten die typische Anordnung der Konidien an den Trägerzellen; nur ein verhältnismäßig geringer Teil war abgefallen (Abb. 5).

VI. Vergleich des Abdruckverfahrens mit der Auflichtmikroskopie.

Die Beobachtung im Auflichtmikroskop liefert vielfach ganz ausgezeichnete Bilder: Ein Belag von Mehltaupilzen z. B. wird in einer Art wiedergegeben, die die im allgemeinen mit der Abdruckmethode zu erzielenden Bilder weit übertrifft; von ganz jungen Stadien sei hier allerdings abgesehen. Auch bei der Untersuchung von Objekten, von denen die Herstellung eines Oberflächenabzuges etwa wegen der Kleinheit oder der Oberflächenbeschaffenheit nur schwer oder überhaupt nicht möglich ist, kann die Untersuchung mit Hilfe des Auflichtmikroskopes einen großen Vorteil bedeuten.

Meist steht jedoch das Auflichtverfahren der Abdruckmethode weit nach, besonders in jenen Fällen, wo mit Hilfe eines Abklatsches der Nachweis geringer Sporenmengen überhaupt erst möglich ist. So ist es beispielsweise durchaus nicht leicht, im Auflichtmikroskop Cercospora-Konidien auf Rüben- oder Kirschenblättern aufzufinden, auch wenn sie recht zahlreich sind; sie heben sich von der Umgebung nur verhältnismäßig schlecht ab. Es ist meist unmöglich zu sehen, ob die Sporen einzellig oder unterteilt sind, und ob ihre Membran farblos oder gefärbt ist, Dinge, die man im Abklatschpräparat leicht erkennt.

Abb. 5. Sphondylocladium atrovirens. Gelatineabdruck von einer Kartoffelknolle. Etwa 100fach vergrößert.

Außerordentlich störend wirkt sich bei Verwendung stärkerer Systeme (Objektiv 7 a) die Unebenheit der Objekte aus, besonders beim Absuchen größerer Flächen. Die Auflichtmikroskopie ist also für Demonstrationszwecke vielfach mit Erfolg anzuwenden, in der phytopathologischen Diagnostik aber versagt sie gerade in jenen Fällen, wo das Abdruckverfahren im Vergleich zu den übrigen Methoden die größten Vorteile bietet.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Das Abdruckverfahren zur Untersuchung epiphytischer Pilze stellt eine wesentliche Ergänzung der üblichen Methoden dar; seine Brauchbarkeit zeigt sich vor allem, wenn der Pilzbelag makroskopisch nicht mehr zu sehen ist.

2. An Hand zahlreicher Beispiele werden Anwendungsbereich, Grenzen, Nachteile und Vorteile der Methode selbst, sowie auch der einzelnen zur Herstellung der Häutchen geeigneten Substanzen dargelegt.

3. Von wasserlöslichen Stoffen kommen Gelatine und Gummi arabicum in Betracht; letzteres ist wegen der Sprödigkeit der Häutchen nur bei Zu-

gènes vis-à-vis des antibactériens. (Soc. Intern. di Microbiol. Boll. della Sez. Ital. Vol. 10. 1938. p. 48—52.)

An 5 farbstoffbildenden Bakterien wurde der Einfluß des Kalziums auf die Widerstandskraft dieser Arten gegenüber Phenol in verschiedenen Konzentrationen und bei verschiedener Einwirkungsdauer sowie gegenüber feuchter Wärme (52° C) untersucht. Es hat sich gezeigt, daß die Wirkung des Phenols auf Nährböden, die vermittels Oxalat weitgehend vom Kalzium befreit worden waren, schwächer ist als auf kalziumhaltigen Nährböden. Bei Erwärmung der Kulturen auf 52° C konnte ein solcher Unterschied zwischen kalziumfreien und kalziumhaltigen Nährböden nicht festgestellt werden.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Bunker, H. J., The microbiological aspect of anaerobic corrosion. (II. Congrès mondial du pétrole. Paris. 1937. 3 p.)

Die Korrosion des Eisens in großen Behältern für Rohöl, Petroleum, Gas usw. verläuft unter anaeroben Bedingungen. Der Wasserstoffakzeptor, der für diesen Vorgang unentbehrlich ist, da sonst die Lösung des Eisens infolge Polarisation sofort zum Stillstand kommen würde, kann hier infolgedessen nicht der Luftsauerstoff sein. An dessen Stelle tritt sehr häufig Sulfat, das durch sulfatreduzierende Bakterien zu Schwefelwasserstoff reduziert wird. Diese Bakterien sowie ihre Aktivität konnten in allen Fällen solcher Korrosion im Wasser und Schlamm der Behälter nachgewiesen werden. In einem derselben konnten jedoch weder Korrosion noch die Gegenwart sulfatreduzierender Bakterien festgestellt werden. Er unterschied sich von den anderen nur dadurch, daß er innen zementiert war, wodurch das Wasser in ihm stark alkalisiert und die sulfatreduzierenden Bakterien abgetötet worden waren. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Richards, O. W., Colchicine stimulation of yeast growth fails to reveal mitosis. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 187—195.)

Bei Anwendung des Kolchizin-Verfahrens auf Hefe erwies sich dieses Alkaloid lediglich für die amitotische Zellvermehrung als Stimulans. Irgendeine Begünstigung mitotischer Teilungsvorgänge konnte nicht beobachtet werden, obwohl zahlreiche gefärbte Präparate von Zellen aus 0—4,5% Kolchizin enthaltenden Lösungen durchgemustert wurden. Die stärkste Vermehrung der Hefe wurde mit 1% Kolchizin erreicht, das nicht biosartig, sondern als Nährstoff und als Puffersubstanz wirkt.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Kakukawa, T., Über das Redoxpotential der Suspension lebender Hefezellen. (Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., IV. Ser. Vol. 12. 1938. p. 551—571.)

Im Warburgschen Apparat mit Gaszuführungsrohr, Platinelektrode und KCl-Agarheber wurden die Redoxpotentiale und entwickelten CO_2-Mengen in Suspensionen lebender Hefen gemessen. Unter streng anaeroben Bedingungen wurden als Endwert der glukosehaltigen, auf p_H 5,4 gepufferten Suspensionen —170 bis —180 mV bestimmt. Zugesetztes Methylenblau, Indigotetrasulfonat und Indigotrisulfonat wurden vollständig reduziert. Sie bewirkten in ihren Potentialbereichen eine Abfallverzögerung der Potentiale, und zwar in höheren Konzentrationen stärker als in niedrigeren (Methylenblau in zwei Konzentrationen). Janusgrün bewirkte keine Abfallverzögerung und wurde nicht vollständig reduziert, da sein Potential bei dem

gegebenen p_H dem endgültigen Potential der Hefesuspension naheliegt (— 140 mV). Der Endwert des Potentials der Hefesuspension wurde durch die Indikatoren nicht beeinflußt. Unter streng anaeroben Bedingungen waren die potentiometrisch und indikatorisch gemessenen Endwerte annähernd gleich.

C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Hartelius, V., Untersuchungen über die Methode, das Wachstum der Hefe durch Änderung des p_H in der Nährlösung zu messen. (C. R. Lab. Carlsb. Sér. physiol. Vol. 22. 1937. S. 89—97.)

Die kürzlich von Boas u. a. ausgearbeitete Methode der Ermittlung der Wachstumsgröße von Hefe, kultiviert auf $(NH_4)_2SO_4$-Lösung, beruht auf der Konstanz der Summe von p_H + log Zellzahl. Wie Verf. nachweisen konnte, ist diese Methode jedoch nur beschränkt anwendbar. Bei niedrigen zugesetzten Bierwürzekonzentrationen steigt die Summe stetig an, auch wenn man statt der Zellzahl die Trockensubstanzproduktion einsetzt. Lediglich im Bereich von $^1/_4$—2% Bierwürze sind die Werte einigermaßen gleichbleibend. Die Vermehrung der Hefe geht also nicht mit der Veränderung der H-Ionenkonzentration parallel. Diese letztgenannte ist ein Zeitfaktor. Die Ursachen können verschiedener Herkunft sein. Zuckerverbrauch und Säureproduktion sind ebenso wie NH_3-Aufnahme und Säureabgabe mit der H-Ionenkonzentration veränderlich bzw. stark von der Wuchsstoffkonzentration abhängig. Ändert man jedoch das Verfahren dahingehend ab, daß Vergleichsskalen gebraucht werden, die von Kulturen mit bekannten, steigenden Wuchsstoffgehalten aufgenommen wurden, so ist eine direkte Bestimmung der Wachstumsgröße möglich. Allerdings darf der durch Bierwürze zugegebene Wuchsstoff die Pufferung der Lösung nicht beeinflussen.

Skallau (Berlin).

Winge, Ö., and Laustsen, O., On two types of spore germination, and on genetic segregation in Saccharomyces, demonstrated through singlespore cultures. (C. R. Lab. Carlsb. Sér. physiol. Vol. 22. 1937. p. 99—117.)

Einer der Verff. (Laustsen) entwickelte eine besondere Technik zur Isolierung sämtlicher Sporen eines Askus von Saccharomyces ellipsoides (Preßhefe, Handelsware), so daß sie für die Darstellung einer Einsporkultur dienen konnten. Die Keimung der Sporen des gleichen Askus zeigte keine einheitlichen Bilder, es entstanden sowohl längliche wie auch runde Zellen. Diese stellen haploide, „reduzierte Formen“ im Sinne von Kruis und Satava dar, die auch als solche Kolonien bilden können, jene sind diploid und direkt zur Askussporenbildung befähigt, sie erzeugen diploide Kolonien. Die runden, haploiden Zellen untergehen eine Zygotenbildung, aus der sich — zunächst ohne Sporenbildung — diploide längliche Hefezellen entwickeln. Die paarweise Konjugation unterscheidet also die haploiden Formen von den diploiden. Allerdings sind auch geringe morphologische Differenzierungsmerkmale vorhanden. Unter bestimmten Ernährungsbedingungen jedoch konnten Verff. auch aus haploiden Formen diploide direkt entwickeln. Im Gegensatz zu Satava können sie 3 verschiedene Formen des „reduzierten Zustandes“ nicht feststellen. Die Erfahrung zeigt also, daß eine Einsporkultur nicht immer als reine Linie anzusehen ist, die Abkömmlinge einer diploiden Hefe können bei der Sporulierung plötzlich haploide, sterile Formen hervorbringen. Auch von parthenogenetischer

Askusbildung bei Saccharomyceten zu sprechen, ist unberechtigt. Die Sporen sind einkernig, durch Verschmelzung von Mutter- mit Tochterkern gleich nach der Keimung entsteht die normale diploide Hefezelle. Es findet eine genetische Aufspaltung statt, die jedoch nur morphologisch-cytologisch zu verfolgen ist, physiologische Methoden versagen. Bei Inzucht läßt die Gärfähigkeit nach. *Skallau (Berlin).*

Nielsen, N. und **Hartelius, V.**, Untersuchungen über die Stickstoffassimilation der Hefe. IX. Die Stickstoffausscheidung der Hefe bei tiefer Temperatur. (C. R. Lab. Carlsb. Sér. physiol. Bd. 22. 1938. S. 196—202.)

In der Reihe der Faktoren, welche die N-Ausscheidung der Hefe beeinflussen, wurden diesmal die Beziehungen zwischen Versuchstemperatur und N-Abgabe untersucht. 25 g Hefe (1 g Trockensubstanz) dienten zur Beimpfung von 1 l synthetischer Nährlösung mit Bierwürzezusatz (Bios). Bei 8° C vergingen 33 Tage bis 100 g Rohrzucker bis auf 0,5% vergoren waren. Das Wachstum erfolgte sehr langsam, nach 26 Tagen war eine Vermehrung um 50% eingetreten, die zugegebene Bierwürze (5 ccm) wirkte als begrenzender Faktor. Der Gesamt-N-Gehalt der Nährlösung [$(NH_4)_2SO_4$ als N-Quelle] erreichte in dieser Zeit sein Minimum, in den einzelnen Versuchsreihen waren lediglich quantitative Unterschiede vorhanden, die Abnahme betrug ca. 40—50%. Der NH_3-Gehalt nahm bis zum 33. Tage stetig ab. Die Differenz beider Zahlen (Menge des von der Hefe ausgeschiedenen N) stieg im Gegensatz zu den früheren Versuchen bei 20° regelmäßig an. Während des Wachstums ist die N-Ausscheidung am kräftigsten, sie ist von der Temperatur nicht abhängig, es wird durchweg ein Drittel des aufgenommenen N wieder abgeschieden. Dagegen ist die N-Ausscheidung während der Autolyse sehr temperaturveränderlich. Der Eigengehalt der Hefe an N scheint bei tieferer Temperatur höher zu sein als bei Zimmertemperatur. Die vorliegenden Ergebnisse können nicht auf Versuche in Bierwürze übertragen werden.

Skallau (Berlin).

Nielsen, N. und **Sing-Fang, Fang**, Vergleichende Untersuchungen über Wuchsstoffwirkung auf verschiedene Arten von Hefe und Schimmelpilzen. (C. R. Lab. Carlsb. Sér. physiol. Bd. 22. 1937. S. 141—154.)

Im Anschluß an frühere Arbeiten mit den Wuchsstoffen B_1 und B_2, deren Wirkung auf Aspergillus niger und Saccharomyces cerevisiae untersucht wurde, kamen jetzt folgende Präparate zur Verwendung: Hefeextrakt, Extrakt von Boletus edulis, Pilsnerwürze (10,7% Balling), „Aspergillin" (Nährlösung, auf der Asp. nig. gewachsen war), „Rhizopin", „Penicillin", erwärmte Zuckerlösung, Mischung von 3 Teilen Brenztraubensäure mit 1 Teil Glykolsäure. Außerdem wurde der Arbeitsbereich auf diese Pilze ausgedehnt: Penicillium Roqueforti, Rhizopus suinus, Saccharomyces ellipsoideus, Saccharomycodes Ludwigii, Schizosaccharomyces Priorianus, Zygosaccharomyces Pombe. Es konnten die früheren Ergebnisse der Arbeiten von Nielsen und Hartelius bestätigt werden, wonach die Theorie von Dagys nicht richtig ist, eine weitere Stütze ist auch in den Untersuchungen von Schopfer und Mitarbeitern über den Wuchsstoffbedarf bei Mucoraceen zu erblicken. Der Wuchsstoff B kann durch Ausschüttelungen mit Hefe oder Schimmelpilzen

in zwei voneinander verschiedene Gruppen zerlegt werden, die Unterschiede im chemischen Verhalten aufweisen. Die beiden Gruppen wirken auf die obengenannten Pilze sehr abweichend, die systematische Stellung der Pilze ist nicht maßgebend für ihr Verhalten gegen B_1 und B_2, auch den anderen oben angeführten Stoffen gegenüber nicht. Z. B. wirkte die Mischung von Brenztraubensäure mit Glykolsäure auf Aspergillus niger als Wuchsstoff, aber nicht auf die anderen Pilze. Die Einwirkungen der genannten Stoffe auf Hefen verliefen qualitativ gleichsinnig, doch waren große quantitative Unterschiede vorhanden. Eine Ausnahme machte Saccharomycodes Ludwigii, die z. B. auf Aspergillin stärker ansprach als auf Bierwürze und Boletusextrakt im Gegensatz zu den übrigen Hefen. Aus ihren Untersuchungen schließen Verff., daß die Wuchsstoffe oder ihre Kombinationen artspezifisch für den Pilz sind. *Skallau (Berlin).*

Nielsen, N., Untersuchungen über die Stickstoffassimilation der Hefe. X. Ergänzende Untersuchungen über die Assimilation von Aminosäuren durch Hefe. (C. R. Carlsb. Sér. chim. Bd. 22. 1938. S. 384—390.)

Im Anschluß an voraufgegangene Untersuchungen über die Assimilation verschiedener Aminosäuren wurden jetzt die α-Aminoderivate folgender normaler razemischer Säuren auf ihre Brauchbarkeit als N-Quelle untersucht: Buttersäure, Capronsäure, Caprylsäure. Eine der optisch aktiven Formen wurde stets aufgenommen, dagegen nicht Verbindungstypen wie Sarkosin (ein N-Methyl-Glykokoll), und das Di-N-Methylglykokoll. Offenbar verhindert hier die Methylgruppe die Assimilation, Giftwirkung liegt nicht vor. Versuche an α-Amino-α-Methyl-Buttersäure und α-Amino-iso-Buttersäure zeigten, daß eine Substitution desjenigen H, das an der C-NH_2-Gruppe sitzt, durch Methyl z. B. die Aufnahme der N-Verbindungen durch die Hefe verhindert. Bei Verwendung von d, l-ε-Aminocapronsäure konnte kein zeitlicher Endwert der Assimilation erreicht werden, entweder liegt hier eine Giftwirkung vor, oder die Aminoderivate werden umgelagert und dadurch der Assimilation zugänglich gemacht. *Skallau (Berlin).*

Nielsen, N., Untersuchungen über die Senkungsgeschwindigkeit der Hefe. (C. R. Lab. Carlsb. Sér. physiol. Bd. 22. 1937. S. 61—86.)

Die 1933 vom Verf. ausgearbeitete Methode der direkten Messung der Senkungsgeschwindigkeit (SG) der Hefe lieferte gut wiederholbare Werte. Mit ihrer Hilfe wurde jetzt der Einfluß folgender Faktoren auf die SG untersucht. Preßhefe, Brauereihefe und Hefe vom synthetischen Nährboden (Asparagin, Bierwürze) besaßen den gleichen Senkungsprozent (SP) für Aufschlämmungen zwischen 10—100 mg/10 ccm. Mit steigender Senkungszeit fällt SP. Die H-Ionenkonzentration in der Aufschlämmung ist für SP ohne Bedeutung, dagegen wohl die der Nährlösung. Bei Alkalischwerden des Nährbodens fällt SP. Miteinander verglichen zeigten die einzelnen Hefearten unter gleichen Versuchsbedingungen verschiedene SP. Die SG nimmt zunächst mit zunehmendem Alter ab, bis zu einem Tiefstwert vom 5.—11. Tage, um dann wieder langsam zu steigen. In sehr starkem Maße ist die SG von der Wuchsstoffmenge abhängig. Daran arme Hefen sinken schnell, während wuchsstoffreiche 3mal so lange fallen. Hefen, die in niederen Temperaturbereichen gezogen wurden (5°), fallen schneller als solche aus höheren Bereichen (33°). Von großem Einfluß ist schließlich noch die N-Quelle, nicht dagegen die Menge des vorhandenen N. Aminosäuren und Pepton erhöhen die SG gegenüber $(NH_4)_2SO_4$. Ein Vergleich mit anderen Hefearten ergab, daß diese voneinander abweichende SG haben. So ist SG für Nadsonia fulvescens 200mal so groß wie für Sacch. cer., die Zahlen für Klöckeria, Candidia, Entomycopsis, Zygosaccharomyces u. a. fallen ungefähr in den Bereich für die gewöhnliche Hefe. *Skallau (Berlin).*

Yoshimura, F., The action of Copper and Manganese upon the Formation and Color of Conidium of Some Species of Aspergillus. (J. Fac. Sci. Hokk. Imp. Univ. Ser. V. Vol. 4. 1937. p. 117—139.)

Es wurde der Einfluß einer Reihe von Schwermetallsalzspuren auf Ausbildung und Farbe der Konidien von Aspergillus niger, Batatae, oryzae, flavus, parasiticus, tamarii, Wentii, clavatus, versicolor, japonicus, terreus, ochraceus, melleus, awamori, sulphureus, candidus und ustus untersucht. In den meisten Fällen konnte mit zunehmender Cu-Gabe eine Farbvertiefung festgestellt werden, wenig oder unverändert blieb die Farbe der Konidien bei den Arten tamarii, clavatus, ochraceus, awamori, candidus, ustus. Im allgemeinen begünstigt dies Element das Auskommen von Konidien, abweichend hiervon verhalten sich clavatus, Wentii und terrens. Cu wirkt gegensinnig, die Farbe wird heller, die Sporulation schwächer. Der Glukosegehalt der Nährböden spielt ebenfalls eine maßgebliche Rolle für die Ausbildung der Konidien, die Pilze neigen im allgemeinen bei abnehmendem Gehalt stärker zur Sporulation. Mn ist für das Myzelwachstum unerläßlich, bei Fehlen kommt Kugelzellbildung zustande. Fehlt eins der Elemente (Cu, Mn evtl. auch Zn) so tritt ungewöhnliche Verformung der Kolumella und Sterigmen ein. Bei Gegenwart von Mn werden höhere Aziditätsgrade vertragen, es kommt leichter zur Bildung der vegetativen Fruchtform, in ähnlichem Sinne wirkt Fe und Co. Auf Farbe und Hervorbringen von Konidien üben Ni, Co, Al keinen merklichen Einfluß aus. Weitere zahlreiche Einzelheiten müssen der reich bebilderten Originalarbeit entnommen werden. *Skallau (Berlin).*

Sakamura, T., Über einige für die Kultur von Aspergillen notwendige Schwermetalle und das Befreiungsverfahren der Nährlösung von ihren Spuren. (J. Fac. Sci. Hokk. Imp. Univ. Ser. V. Vol. 4. 1937. S. 99—116.)

Anknüpfend an die bekannten Reinigungsverfahren durch Adsorption mittels Carbo med. Merck verfolgte Verf. den Reinigungsgrad quantitativ. Zum Vergleich wurde noch eine Aktivkohle japanischer Herkunft (Takeda) herangezogen. Die Kulturversuche mit Aspergillus niger, oryzae, tamarii ergaben, daß beide Kohlen keine restlose Entfernung der Schwermetallsalzspuren bewirken konnten, sondern daß im Gegenteil noch solche an die zu reinigende Nährlösung abgegeben wurden, insbesondere Mn von der Takedakohle. Bei Anwendung dieses Präparates konnte trotz Cu-Zusatz keine Kugelzellbildung erzielt werden, Verf. vermutet Antagonismus zwischen Mn und Cu. Durch die Versuche Hopkins an Chlorella veranlaßt, verwandte er daher Ca-Phosphat (Merck). Es wurden hier erheblich stärkere Adsorptionseffekte erhalten, besonders, wenn das Phosphat vorher sorgfältig gewaschen und getrocknet wurde (Befreiung von Nitrat), und zwar unabhängig von der Reaktion der Kulturlösung (2—0,25% Phosphat). Die polarographische Adsorptionsanalyse bestätigte die Wachstumsergebnisse. Der Verwendung der Gläser ist besondere Aufmerksamkeit zu widmen, sie dürfen nicht trocken sterilisiert werden. In der Praxis verwendet man 0,5% Phosphat in schwach saurer Lösung ($p_H = 5,5$), die 5 Std. geschüttelt wird. Im Gegensatz zur Kohle werden vom Phosphat keine unbestimmbaren Substanzen abgegeben. *Skallau (Berlin).*

Wilkins, W. H., Harley, J. L., and **Kent, G. C.,** The ecology of the larger fungi. II. The distribution of the larger fungi in part of Charlton forest, Sussex. (Ann. Appl. Biol. Vol. 25. 1938. p. 472—489.)

Für eine Reihe von höheren Pilzen, die Verff. in einem Buchenwald feststellten, wurde versucht, die Frage zu beantworten, ob die verschiedenen Pilzarten eine besondere Vorliebe für eine bestimmte Pflanzengesellschaft oder eine bestimmte Bodenbeschaffenheit erkennen lassen. Die gewonnenen Ergebnisse lassen sich natürlich nicht ohne weiteres verallgemeinern. Sie stellen aber trotzdem einen wertvollen Beitrag zur Ökologie der höheren Pilze dar. Z. B. wurde Marasmius peronatus ausschließlich in tiefer Laubstreu angetroffen, gleichgültig, ob der Boden mit Mercurialis oder Oxalis bestanden oder gänzlich frei von krautigem Bewuchs war. Für das fruktifizierende Myzel dieses Pilzes scheint ein p_H-Intervall von 4—6 besonders zuträglich zu sein. Dagegen wurde Craterellus cornucopioides nur auf Flächen ohne krautigen Bewuchs angetroffen, aber stets mit Moosen vergesellschaftet. Das fruchtende Myzel bevorzugt offenbar auch p_H-Werte zwischen 4 und 6. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Jenkins, A. E. und **Bitancourt, A. A.,** Doenças das plantas causadas por fungos dos generos Elsinoe e Sphaceloma. (Rodriguesia. Bd. 2, Sondernummer. 1937. S. 305—313.)

Die Arbeit enthält eine Beschreibung der Gattung Elsinoe und ihres Konidienstadiums Sphaceloma. Die systematische Stellung dieser Gattung wird näher diskutiert und im Anschluß daran die Gesamtverbreitung, unter besonderer Berücksichtigung Südamerikas, geschildert. In einer tabellarischen Übersicht sind die bisher bekannten Vertreter dieser Gattung, ihre Wirtspflanzen (19 Familien) und ihre geographische Verbreitung angegeben. Vermerkt ist auch, in welchem Lande und zu welchem Zeitpunkte der betreffende Pilz erstmalig beobachtet wurde. Gewisse Pilze dieser Gattung, wie z. B. Sphaceloma rosarum (Rosa sp.) und Elsinoe ampelina (Vitis sp.) sind weitverbreitet, andere Formen, wie S. fawcetti viscosa (Citrus sp.) und E. phaseoli (Phaseolus lunatus) sind nur aus bestimmten Gebieten bekannt. In einer weiteren Tabelle werden nur die in Südamerika vorkommenden 13 Arten berücksichtigt, für die der Name der Krankheit sowie die Wirtspflanzen angegeben werden. Eine andere Spalte enthält Angaben über das Auftreten in 6 südamerikanischen Staaten. Ein umfangreiches Literaturverzeichnis beschließt diese Arbeit. *M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).*

Buchwald, N. F., Om Sporeproduktionens Størrelse hos Tøndersvampen, Polyporus fomentarius (L.) Fr. [Über den Umfang der Sporenproduktion des Zunderschwammes, P. foment.] (Friesia. Bd. 2. 1938. S. 42—69.) [Dän. m. ausführl. engl. Zusfassg.]

Um die von Polyporus fomentarius produzierte Sporenmenge zu bestimmen, wurden die Sporen von Fruchtkörpern sowohl im Freien, unter natürlichen Bedingungen als auch an Stammstücken, die im Laboratorium aufgestellt waren, aufgefangen. Nach Aufschwemmung der erhaltenen Sporenmenge in Wasser wurde mit Hilfe eines Hämozytometers die Anzahl der Sporen ermittelt. Es zeigte sich, daß die Sporenproduktion

unter natürlichen Verhältnissen erheblich größer ist als im Laboratorium. Der Sporenfall findet gleichmäßig Tag und Nacht, bei Dunkelheit als auch bei Licht statt. Ein Fruchtkörper mit einer Porenschicht von 154 qcm erzeugte stündlich etwa 887 Mill. Sporen. Das entspricht einer täglichen Sporenerzeugung von 139 Mill. je 1 qcm der Porenschicht. 1 g Sporenpulver enthält etwa 9 Milliarden Sporen. Danach beträgt das Gewicht einer Spore 0,000 000 111 mg. Durch Vergleiche mit anderen höheren Basidiomyzeten und vor allem anderen Polyporus-Arten wurde festgestellt, daß Polyporus fomentarius die höchste bisher bekannte Sporenerzeugung aufweist. Während der gesamten (6monatigen) Sporenproduktionsperiode eines Jahres beläuft sich die erzeugte Sporenmenge eines Fruchtkörpers mittlerer Größe auf etwa 9000—18 000 Milliarden Sporen.

H. Richter (Berlin-Dahlem).

Zakharova, N. D., On the rôle of bios in lichen symbiosis. (Bull. Inst. Rech. Biol. Perm. Vol. 11. Heft 5/6. 1938. p. 141—146.) [Russ., engl. Zusfassg.]

Die Beteiligung von Azotobakter an der Flechtensymbiose wurde für weitere Flechtenarten nachgewiesen. In einem aus Hefe dargestellten, „Bios" enthaltenden Medium zeigten die isolierten Azotobakter-Stämme stärkeres Wachstum und gesteigerte N-Bindung. Verf. vermutet, daß in den Gonidien der Flechten „Bios" produziert wird, und daß dieses durch seine Einwirkung auf Wachstum und Vermehrung von wesentlicher Bedeutung für die Flechtensymbiose ist.

C. R. Baier (Kiel-Kitzeberg).

Enzymologie und Bakteriophagie.

Fernando, M., Studies in the Physiology of Parasitism. XV. Effect of the Nutrient Medium upon the Secretion and Properties of Pectinase. (Ann. Bot. N. S. Vol. 1. 1937. p. 727—745.)

Es wurde der Einfluß der Zusammensetzung von Nährlösungen auf Erzeugung und Eigenschaften von Pektinase folgender Mikroben untersucht: Bacillus carotovorus Jones (Tomate), B. subtilis (Ehrenberg) Cohn, Botrytis cinerea Pers. (Salat), Pythium de Baryanum Hesse (Kresse). Eine kräftige Enzymausscheidung durch Bac. carotovorus ist gewährleistet, wenn gutes Wachstum erfolgt und der p_H-Wert zwischen 5,8—8,5 liegt. Von besonderer Bedeutung ist hierbei das anfängliche C : N-Verhältnis des Kulturmediums. Liegen hohe Asparagingaben in ungepufferten Medien neben niedrigen Glukosekonzentrationen vor, so besteht die Gefahr einer Säuerung des Nährbodens nicht, dagegen ist diese beim umgekehrten Asparagin/Glukoseverhältnis gegeben. Bleibt das Verhältnis gleich günstig, sinken aber die Nährstoffkonzentrationen, so sinkt auch die Reaktionszeit. Sind Asparagin und Glukose in gleichen Mengen zugegen, so ist die Enzymproduktion eine Funktion des Asparagingehaltes. Es erwies sich bei allen Versuchen, daß der absolute Gehalt einer Komponente nie so maßgebend wie das C : N-Verhältnis war, da dieses die H-Ionenkonzentration stark beeinflußt. Infolgedessen spielt die Pufferung durch K_2HPO_4 eine erhebliche Rolle. Abgesehen von einem Stimulationseffekt der N-Verbindungen beherrscht die anfänglich vorhandene H-Ionenkonzentration immer die Enzymtätigkeit. Asparagin, Pepton, Ammontartrat als N-Quelle verursachen eine Verschiebung des Reaktionswertes der Nährlösung ins alkalische Gebiet, damit wird die enzymatische Tätigkeit

der Mikroben begünstigt. Die Ammonsalze starker anorganischer Säuren bewirken zwar kräftiges Wachstum, aber schwache Enzymabscheidung, da der p_H-Wert auf 3 sinkt. Ammonphosphat, Harnstoff, Nitrate nehmen eine Mittelstellung ein. Alle untersuchten Mikroben zeigten unter den gegebenen Versuchsbedingungen gleiches qualitatives Verhalten, bezüglich der quantitativen Unterschiede konnte diese Reihe aufgestellt werden: Bacillus carotovorus, Botrytis cinerea, Bac. subtilis, Pythium de Baryanum. Von natürlichen Medien war Kartoffelextrakt geeignet (Entwicklung alk. Reaktion), Apfelsaft gänzlich ungeeignet, Rüben- und Karottensaft nur anfänglich günstig, da diese beiden mit zunehmender Versuchsdauer Säuerung aufwiesen. *Skallau (Berlin).*

Kluyver, A. J. und **Schnellen, Ch.**, Über die Vergärung von Rhamnose. (Enzymologia. Bd. 4. 1937. S. 7—12.)

Bei genauerer Untersuchung der biochemischen Eigenschaften des von Castellani 1931 zuerst beschriebenen Bact. rhamnosifermentas, das eigenartigerweise von allen Zuckern Rhamnose am stärksten zersetzt, hat sich ergeben, daß bei der Vergärung dieses Zuckers neben vielen anderen Produkten auch Propylenglykol gebildet wird, und zwar ein Molekül aus je einem Molekül Rhamnose. Versuchsweise wurde für den Chemismus der Rhamnosevergärung ein Schema entworfen.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Groß, W., Über die Butylgärungen. (Forschungsdienst. Bd. 4. 1937. S. 583—591.)

Gärungserreger beim Verfahren nach Weizmann sind die nichtluftempfindlichen Vertreter der Gattung Granulobacter pectinovorum, neuerdings werden verschiedene Arten der Spezies Bac. amylobacter A. M. et Bredemann in der Technik zu Butanolgärungen gebraucht. Die Vergärung von Melasse kann durch Cl. saccharobutylacetonicum, Cl. viscifaciens, Bac. butylicus vorgenommen werden, Bac. butylaceticus zersetzt Kartoffeln. Die weitere Bearbeitung dieses Problems erbrachte die Möglichkeit, auch Xylose, Hemizellulosen, Holzzucker, Sulfitablaugen, Abfälle der Kartoffelstärkemehlfabrikation zu verwerten. Die Herstellung der Buttersäure auf bakteriologischem Wege besitzt nicht die Bedeutung der Butanolgewinnung, da jene teurer und weniger gefragt ist. Zugabe von Kreide bei der Butanolgärung bindet die Säuren und verhindert die Bildung von Azeton und Butanol. Der Reaktionsmechanismus der Entstehung von Buttersäure und Butanol richtet sich nach dem zur Verfügung stehenden Substrat, ob Fett, Eiweiß oder Kohlehydrate. So entsteht z. B. die Buttersäure aus Butter beim Ranzigwerden durch Verseifung des Butyrins. Ist Eiweiß das Nährsubstrat, so ist nach Neuberg die Glutaminsäure der Lieferant, wobei die C-Kette durch Abspaltung von CO_2 verkürzt wird. Gleichzeitig wird NH_3 frei. Die eigentliche Butylgärung auf saccharogener Grundlage ist trotz vieler Untersuchungen immer noch unklar, da das entstehende Gärprodukt ein Gemisch aus Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und höheren Homologen ist, dazu kommen Äthanol, Butanol und höhere Homologe, Milchsäure, Azeton u. a. Stoffe. Die reine Buttersäuregärung verläuft nach folgender Bruttogleichung: $C_6H_{12}O_6 = CH_3 - CH_2 - CH_2 - COOH + 4\,CO_2 + 4\,H$. Hierbei findet im Gegensatz zur proteinogenen Bildung ein Aufbau der C_2-Körper zu C_4-Körpern statt. Das Neubergsche Schema, das eine Beteiligung der

Karboligase annimmt, ist nach Ansicht Verf.s und den Arbeiten von Kluyver nicht zutreffend. Die saccharogene Bildung der Buttersäure ist auch insofern hochinteressant, als hier ein Weg der Fettbildung aus Kohlehydraten gewiesen wird (durch Wiederholung der Aldolkondensation). Der Butylalkohol wird nach diesem Schema gebildet: $C_6H_{12}O_6 = HC_3 - CH_2 - CH_2 - CH_2OH + 2\ CO_2 + H_2O$. Genauer untersucht ist schließlich noch die Butanol-Azeton-Gärung, weniger die Buttersäure-Propionsäure und die butyl-äthylalkoholische Gärung. *Skallau (Berlin).*

Morell, Th., Über die Bedeutung der physiologischen Darmflora für den Vitaminhaushalt. (Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 64. 1938. S. 1649—1650.)

Am Beispiel der Dehydrogenase des Bact. coli wurde der Nachweis erbracht, daß die von den Bakterien erzeugten Oxydationsenzyme — im Gegensatz zu den Bakterienproteasen — die Vitaminwirkung im Organismus ausschlaggebend bestimmen. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Lipmann, F., Gärversuche mit Mazerations-Extrakten aus Bäckerhefe. (C. R. Carlsb. Sér. chim. Bd. 22. 1938. S. 317—320.)

Verf. hat die allgemeine Annahme experimentell geprüft, ob gärfähige Mazerationsextrakte nur aus Trockenpräparaten von untergäriger Bierhefe (Methode von Lebedew) gewonnen werden können, ob nicht vielmehr auch die Bäckerhefe als leichter zugängliches und billigeres Material verwandt werden kann. Er wählte für seine Versuche eine käufliche Bäckerhefe der vereinigten dänischen Spritfabriken, die zuerst durch ein 2-mm-Sieb gepreßt, dann 1,5 cm hoch geschichtet und bei 23—25° getrocknet wurde. Die auf diese Weise langsam getrocknete Hefe wurde mit m/15 Na_2HPO_4-Lösung etwa 2 Std. extrahiert. Infolge eines Gehaltes an gelbem Ferment sieht der Mazerationssaft gelb aus. Ist das Phosphat im Überschuß, so verläuft die Gärung nach Hardenberg-Young: $2\ C_6H_{12}O_6 + 2\ H_3PO_4 = 2\ CO_2 + 2\ C_2H_5OH + C_6H_{10}O_6(H_2PO_3)_2 + 2\ H_2O$. Sinkt der Gehalt des anorganischen Phosphates auf 20% des Anfangswertes, so geht die Gärung im Gegensatz zu derjenigen im Unterhefeextrakt mit ziemlich unverminderter Geschwindigkeit weiter, allerdings ohne Veresterung, es verschwindet auch kaum Phosphat. Für diese Periode gilt dann die Gay-Lussacsche Gärungsgleichung. Maximal vergärt 1 ccm Extrakt in der Stunde 10,6 mg Glukose. *Skallau (Berlin).*

Maier, K., Vitamine als Coenzyme. (Chemiker-Zeitung. Bd. 63. 1939. S. 89—92.)

Nach unseren heutigen Vorstellungen besteht ein Enzym (Symplex, Holoenzym) aus einem hochmolekularen Träger von Eiweißcharakter (Pheron, Apoenzym) und einer niedermolekularen Wirkgruppe (prosthetische Gruppe, Agon, Coenzym), die entweder durch Hauptvalenzbindung in das Eiweißmolekül eingebaut ist oder lediglich in einem mehr oder weniger festen Zusammenhang mit ihm steht. Das Coenzym ist Träger der Wirkungsspezifität, das Apoenzym ist Träger der Substratspezifität.

Das älteste der bekannten Coenzyme, die Cozymase, wirkt als Codehydrase, andere Cofermente erwiesen sich als mit Vitaminen bzw. deren Phosphorsäureestern identisch, nämlich die Cocarboxylase und die prosthetische Gruppe des gelben Fermentes. Carboxylase, ein Enzym des die Gärung bewirkenden Enzymkomplexes, spaltet beim Kohlenhydratabbau durch alkoholische Gärung die Brenztraubensäure, eine α-Ketosäure, in Azetaldehyd und CO_2. Die Carboxylase ist ein Holoenzym, dessen Coenzym, die Cocarboxylase, durch Waschen der Hefe mit schwach alkalischer Phosphatlösung ab-

trennbar ist. Aus Bierhefekochsaft wurde die Cocarboxylase in Form des Hydrochlorids isoliert und als Pyrophosphorsäureester des Vitamins B_1, des Aneurins, erkannt. Die α-Ketosäuren spaltende Carboxylase ist in Pflanzenzellen, besonders in Hefen, weit verbreitet. In Bierhefe liegt fast das ganze Vitamin in der phosphorylierten Gruppe, also als Cocarboxylyse vor. Bei der Decarboxylierung der Brenztraubensäure bildet diese mit der Aminogruppe, der aktiven Stelle des Enzyms, eine Iminosäure, die spontan CO_2 abspaltet, dabei in ein Aldehydimin übergeht, das mit einem weiteren Molekül Ketosäure erneut Iminosäure, ferner Aldehyd liefert. Das gelbe Ferment, erstmalig aus Hefemazerationssaft isoliert, erwies sich als Eiweißkörper mit einem Molekulargewicht von 72 000—82 000 und einem isoelektrischen Punkt bei $p_H = 5{,}22$. Die prosthetische Gruppe, der farbgebende Bestandteil, stellt einen Phosphorsäureester des Vitamins B_2, des Laktoflavins, dar. Zwischen Wachstumswirkung und Cofermenteigenschaft der Flavine besteht ein enger Zusammenhang. Das gelbe Ferment spielt eine wichtige Rolle in der Zelle als Redoxkatalysator, d. h. als Wasserstoffakzeptor und -überträger. Die Wirkungsgruppe dieser Cofermente ist die Nikotinsäureamidgruppierung. Laktoflavin ist in der Pflanze und im tierischen Organismus weit verbreitet, was auf eine wichtige Stellung im biologischen Geschehen hindeutet. In neuester Zeit sind 3 weitere gelbe Fermente mit Laktoflavinnukleotiden als prosthetische Gruppen isoliert worden, die d-Aminosäureoxydase aus Hammelnieren, die Xanthinoxydase aus Hefe und ein Flavinprotein aus Milch. Mit den bisherigen Untersuchungen sind 3 Faktoren des Vitamin B-Komplexes, Aneurin, Laktoflavin und Nikotinsäureamid, als aktive Gruppen von Fermenten erkannt worden. *Heuß (Berlin).*

Mikrobiologie der Nahrungs- Genuß- und Futtermittel.

Grove, O., Sur la biologie et la fermentation du jus de pomme et du cidre. (Dissert. Oxford. 1936. 108 p., 7 Taf.)

In der umfangreichen Abhandlung werden englische Apfelsäfte und Apfelweine einer mikrobiologischen und chemischen Untersuchung unterzogen, wobei die wichtigsten Eigenschaften der isolierten Hefen und Bakterien genau beschrieben werden. U. a. konnten auch die bakteriellen Erreger zweier Obstweinkrankheiten isoliert werden, mit denen künstliche Infektionen mit positivem Erfolg ausgeführt wurden. Die Krankheiten ließen sich durch Zugabe organischer Säuren, etwa 10% Weinsäure, vollständig unterdrücken und traten in stark sauren Apfelsäften überhaupt nicht auf. Untersuchungen über die Gärgeschwindigkeit führten zu der Erkenntnis, daß diese im wesentlichen vom Stickstoffgehalt des Saftes abhängig ist. Mitteilungen über Verzögerung der Gärung durch Zentrifugieren, über die Wirkung verschiedener Filter und den Einfluß des Schwefeldioxyds vervollständigen die Arbeit. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Metzlitzkij, L. W., Die Röntgenisierung der Gemüse bei der Lagerung. (Konserven-, Obst- u. Gemüseindustrie. H. 1. 1938. S. 15—17.) [Russisch.]

Die Röntgenisierung der Zwiebeln erhöhte ihre Aufbewahrungsfähigkeit sehr bedeutend: bei den Aufbewahrungsversuchen 1936—1937 betrug der Prozentsatz der durchgewachsenen bzw. erkrankten röntgenisierten Zwiebeln 6,3 bzw. 3,5%, bei der Kontrolle aber entsprechend 20,4 bzw. 5,0%. Als optimale Dosis haben sich 2000 r erwiesen. *M. Gordienko (Berlin).*

Wiidik, R., Über das Eindringen psychrophiler Keime (Fluorescenten) in das Eiinnere während der Kühlhauslagerung. Gleichzeitig ein Beitrag zum Studium der Eizersetzung durch Fluorescenten. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 48. 1937. S. 81—83 und 106—110.)

Fluoreszenten können bei Kühlhaustemperatur (0°) die unversehrte Eischale durchdringen, und zwar nach Infektion mit Bouillonkulturen bereits innerhalb von 4 Wochen. Die eingedrungenen Keime verursachten Ver-

änderungen, die ziemliche Übereinstimmung zeigten mit der bei Kühlhauseiern beobachteten Weiß- oder Gelbfäule. Die Eizersetzung ging mit Ammoniakbildung einher; Schwefelwasserstoff konnte dagegen nicht festgestellt werden.

In gewissem Gegensatz zu diesen Befunden steht, daß sämtliche Kontrolleier einen völlig keimfreien Inhalt aufwiesen; denn Fluoreszenten sind in Kühlräumen weit verbreitet. Ein Durchwandern der Eischale scheint also unter natürlichen Bedingungen ziemlich selten zu sein oder die eindringenden Keime können die recht beachtliche Bakterizidie des Eiweißes nur bei einer Masseninvasion überwinden. Deshalb sollten Eier nicht in Kühlräumen eingelagert werden, in denen vorher Gemüse, Obst, Fleisch oder Fische aufbewahrt wurden. Noch weniger angebracht ist ein Zusammenlagern der Eier mit Fischen. Auch das Waschen der Eier kann sich nachteilig auswirken.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Wedemann, W., Zur Frage des Eindringens psychrophiler Keime in den Eiinhalt während der Kühlhauslagerung. (Arbeit. a. d. Reichsgesundheitsamte. Bd. 72. 1938. S. 533—538.)

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Wiidik konnte in Versuchen mit 25 frischen Eiern, deren Schale in teils ungewaschenem, teils gewaschenem Zustand mit Aufschwemmungen von psychrophilen Keimen (Fluoreszenten) infiziert worden waren, das Durchdringen der unversehrten Schale während einer 65tägigen Lagerung bei 0—2° und bei rund 85% relativer Luftfeuchtigkeit nicht festgestellt werden. Diese unterschiedlichen Resultate werden auf die von Wiidik gewählten abnormen Versuchsbedingungen zurückgeführt (Aufbewahrung der Eier in Glasbehältern, dadurch Schwitzen bei Temperaturwechsel, starke Keimvermehrung und Schädigung der Eischale durch bakterielle Stoffwechselprodukte, wie sie bei ordnungsgemäßer Kühlhauslagerung nicht eintreten können). Im übrigen aber genügt offenbar das Vorhandensein von psychrophilen Keimen im Ei allein noch nicht, den Eiinhalt zu verderben. Das Verderben der Kühlhauseier nach dem Auslagern ist bedingt durch stattgefundene biologisch-chemische Vorgänge (Altern) und die Gegenwart von Keimen, die bei Zimmertemperatur und bei 37° wachsen. Die bei 0—2° wachsenden Keime sollen nach dem Auslagern nicht mehr gedeihen. Dem Verderben der Kühlhauseier nach dem Auslagern kann durch ordnungsmäßige Auslagerung und baldigen Verzehr vorgebeugt werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Schönberg, F. und **Wiidik, R.**, Nochmals zur Frage des Eindringens psychrophiler Keime (Fluoreszenten) in das Eiinnere während der Kühlhauslagerung. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 49. 1938. S. 82—83.)

Es wird erneut der Beweis dafür erbracht, daß die Fluoreszenten in der Lage sind, die unverletzte Eischale während der Kühlhauslagerung zu durchdringen und den Eiinhalt unter Entstehung der typischen Weiß- und Grünfäule zu zersetzen. Beim Durchleuchten ergeben die grünfaulen Eier das Bild der Rotfäule. Von den insgesamt etwa 1—2% durch Bakterieneinwirkung verderbenden Eiern zeigt nach den Untersuchungen der Verff. ungefähr die Hälfte Fluoreszentenfäulnis; häufig fanden sich Fluoreszenten in Reinkultur. Die abweichenden Ergebnisse Wedemanns werden damit erklärt, daß die von diesem zu den Versuchen benutzten Keime nicht zur Gruppe der Fluoreszenten gehören (nach der Beschreibung Wedemanns können sie jedoch ohne weiteres als Fluoreszenten angesprochen werden).

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Skorodumowa, A. M., Die Lysis der Zellen von Str. lactis bei der Bereitung der Trockenkulturen. (Milch- u. Butterindustrie. H. 3. 1938. S. 27—29.) [Russisch.]

Der Stamm Str. lactis Nr. 3, sowie die dem Str. lactis O. Jensen nahestehenden streptokokkenförmigen Milchsäurebakterien erwiesen sich sehr widerstandsfähig gegen die Lysis. Die Diplokokken der Stämme Str. lactis Nr. 1 und 2 ergaben nach der Lysis Streptokokkenform. Die Lysis wurde durch die Bereitung der Trockenkultur mit Labferment aufgehoben (die Methode von S. Koroljew). Sie kann durch die mikroskopische Beobachtung der Entwicklungsdynamik der die Aktivität verlierenden Milchsäurebakterien mit Sicherheit festgestellt werden. *M. Gordienko (Berlin).*

Sørensen, C. M., Detecting thermophilic contamination in skimmilk powder. (Food Res. Vol. 3. 1938. p. 421—427.)

Das aufgelöste Milchpulver (10 g auf 100 ccm Wasser) wurde 5 Min. lang gekocht, um dann zu je 1 ccm auf 10 Platten verimpft zu werden (in Bacto-Glukose-Tryptonagar, Bebrütung 36—48 Std.). Es kamen 15 verschiedene Milchpulverproben zur Untersuchung. Ergebnisse: Die Zählung der Thermophilen wurde in keiner Weise ungünstig beeinflußt, wenn an Stelle von dest. Wasser n/60 Natrium- oder Lithiumhydroxyd als Verdünnungsmittel verwendet wurde, es konnte im Gegenteil sogar eine leichte Erhöhung im Ergebnis der thermophilen Sporenzählung beobachtet werden. Die Verwendung von n/60 Alkali erwies sich ganz besonders deshalb zweckmäßig, weil sich dadurch die im Walzenmilchpulver häufig vorkommenden Flocken und Körner besser lösten. Weiterhin hat sich als vorteilhaft erwiesen, dem Glukose-Tryptonagar Bromkresolpurpur als Indikator für den Nachweis säurebildender Kolonien zuzusetzen. Auch hier wurde das Ergebnis der Säurebildnerzählung durch Verwendung von n/60 Alkali als Verdünnungsmedium nicht beeinträchtigt.

K. J. Demeter (München-Weihenstephan).

Shadwick, G. W. jr., A study of comparative methods and media used in microbiological examination of creamery butter. I. Yeast and mold counts. (Food Res. Vol. 3. 1938. p. 287—298.)

Die vergleichend nebeneinander untersuchten Nährböden zum Schimmelpilz- und Hefenachweis waren folgende: 1. Frisch bereiteter Kartoffelglukoseagar; 2. aus Trockenpräparaten bereiteter a) Kartoffelglukoseagar, b) Peptonmilchagar, c) Malzagar, d) Molkenagar und e) Würzeagar. Von jeder Probe (insgesamt 15) wurden 8 Agarplatten gegossen. Ergebnisse: Die Einhaltung der Reaktion (p_H 3,5) war wichtig, um zu verhindern, daß Bakterienkolonien zur Entwicklung kamen. — Wenn die Gesamtzahl der Hefen- und Schimmelpilze 30 Kolonien pro Kubikzentimeter nicht überstieg, gaben die 1 : 2-Verdünnungen (5 ccm einer 1 : 10-Verdünnung) etwas höhere Werte, als wenn 1 ccm der geschmolzenen Butter direkt auf die Platten verarbeitet wurde. Bei ungesalzener Butter schienen die erhaltenen Werte durch die verschiedenen Nährböden nicht beeinflußt zu werden, während bei gesalzener Butter einheitlichere Ergebnisse mit den beiden Kartoffelglukoseagar-Sorten als mit den anderen Nährböden erhalten wurden. — Befand sich bei ungesalzener Butter die Schimmelpilz- und Hefezahl zwischen 40 und 50 Kolonien pro Kubikzentimeter (1 : 2-Verdünnung), dann wurden auf dem Würzeagar ebenso gute

Ergebnisse bezüglich der Hefekolonien erhalten als mit den übrigen Agarsorten, während das Wachstum der Pilzkolonien mit dem Würzeagar besser war. — Bei Butter, die eine Schimmelpilz- und Hefezahl von ungefähr 200 Kolonien pro Kubikzentimeter aufwies, zeitigte die 1 : 10-Verdünnung die konstantesten Ergebnisse. Im übrigen wirkte sich bei gesalzener Butter der Kartoffelglukoseagar, bei ungesalzener Butter jedoch der Würzeagar am günstigsten aus. *K. J. Demeter (München-Weihenstephan).*

Hoffmann, S., Untersuchungen über den Fremdkeimgehalt in unpasteurisierter und in pasteurisierter Butter. (Schweiz. Milchzeitg. Jahrg. 64. 1938. S. 469 und 477.)

Der Gehalt an Coli (Nachweis in Galle-Gentianaviolett-Bouillon), Gelatineverflüssigern sowie Hefen, Oospora-Arten und Schimmelpilzen (in Bierwürzeagar) von Butter aus rohem, spontan gesäuertem Rahm wurde jenem von Butter aus pasteurisiertem Rahm gegenübergestellt und versucht, ihn mit dem Ausfall der Sinnenprüfung in Beziehung zu bringen. Die Gesamtkeimzahl wurde allerdings nicht herangezogen. Außer dem fast gänzlichen Fehlen von Coli und Gelatineverflüssigern in Butter aus pasteurisiertem Rahm ließ die Hefe- und Schimmelzahl letzten Endes nur einen Schluß auf die Sauberkeit der Betriebsführung zu. Auch 10 Tage bei 0° gelagerte Butter zeigte keine Zusammenhänge bezüglich Hefe-Schimmelzahl und Ausfall der Sinnenprüfung. Nur bei Lagerbutter wurde meist dann ein Qualitätsabfall festgestellt, wenn diese schon zur Zeit der Einlagerung hoch im Hefe-Schimmelgehalt war. Verf. betont die Bedeutung der bakteriologischen Butteruntersuchung bei der Qualitätsbestimmung und sieht darin eine wertvolle Ergänzung der Sinnenprüfung.

Janoschek (Weihenstephan).

Teplow, W. A., Die Wirkung der Buttersäurebakterien auf die Käsequalität. (Milch- u. Butterindustrie. H. 3. 1938. S. 12—14.) [Russisch.]

Versuche der Impfung des Käses mit Buttersäurebakterien ergaben folgende Resultate: Schon in Mengen von 10 Buttersäurebakterien je 1 ccm Milch beeinflußten die letzteren die Käsequalität, wobei dies mehr den aus der pasteurisierten Milch hergestellten Käse betraf als den aus der nicht pasteurisierten Milch. Die Buttersäuregärung im Käse wird durch die Milchsäuregärung unterdrückt. Die Entwicklung der Buttersäurebakterien im Käse ließ sich in den meisten Fällen erst am etwa 45. Tage der Reifung feststellen, also zu einer Zeit, zu der die Milchsäuregärung bereits nachgelassen hat.

M. Gordienko (Berlin).

Dorner, W., Langhard, O., Mosimann, W. und Ritter, P., Käsereiversuche mit Propionsäurebakterienkulturen. (Schweiz. Milchzeit. Jahrg. 64. 1938. S. 64—65.)

Es wurden die Beziehungen untersucht, die zwischen Lochvolumen des Emmentaler Käses und dem Propionsäure-Bakteriengehalt bestehen. Die Bestimmung des Lochvolumens erfolgte durch die Ermittlung des spez. Gewichts des Käses (im Käsekessel); das spez. Gewicht der lochfreien Käse wurde mit konstant 1,09 angenommen. Als schwach gelocht werden Käse mit einem Lochvolumen unter 10% angesehen, als mittel gelocht solche mit 10—20%, als stark gelocht solche mit über 20%. Eine Abhängigkeit des nach etwa 90 Tagen erreichbaren Endvolumens der Lochung von dem Propionsäure-Bakteriengehalt ergab sich nur unterhalb eines gewissen Minimums des Propionsäure-Bakteriengehalts. Dieses Minimum scheint bei etwa 50 zu liegen. Die Lochung muß also außer von den Propionsäure-Bakterien noch von anderen Faktoren abhängen, was auch daraus hervorgeht, daß Käse mit gleichem Propionsäure-Bakteriengehalt zum Teil ganz verschiedene Endvolumina an Lochung zeigten. Es bestand je

doch eine gewisse Parallele zwischen Propionsäure-Bakterienzahlen, auch soweit sie über dem Minimum lagen, und Einsatz sowie Tempo der Lochbildung. Käse mit hohen Propionsäure-Bakterienzahlen hatten gegenüber solchen mit niedrigen Keimmengen in bezug auf den Beginn der Lochung einen Vorsprung von 8—10 Tagen, in bezug auf das Lochvolumen einen Vorsprung von 20 Tagen und mehr; der Unterschied verschwand erst in den letzten Wochen vor dem Einwägen. Der Zeitpunkt des Einsatzes der Lochbildung und die Schnelligkeit ihres Fortschreitens ist aber sicher nicht bedeutungslos; denn wie aus den Untersuchungen von Koestler hervorgeht, hängen Form und Ausbildung der Löcher infolge starker Änderung der Zug-Elastizität des Teiges während der Reifung in erheblichem Maße von dem Zeitpunkt des Einsatzes der Lochbildung ab. Weiterhin ist ein längerer Aufenthalt des Käses im Gärkeller mit vermehrter Gefahr einer Fehlgärung (z. B. Putrificus-Fäulnis) und mit verminderter Ausbeute durch stärkeren Wasserverlust verbunden. Es wird deshalb eine gewisse Impfung der Käsereimilch für alle die Käsereien empfohlen, die unter Zähschaffigkeit zu leiden haben. Die Form der Impfung, ob die Propionsäure-Bakterien z. B. zum Labansatz oder zur Kesselmilch gegeben werden, scheint belanglos zu sein.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Dorner, W., Langhard, O., Mosimann, W. und Ritter, P., Käsereiversuche mit Propionsäurebakterienkulturen. (Schweiz. Milchzeit. Bd. 64. 1938. S. 553—554.)

Verff. haben an insgesamt 40 Käsen den Einfluß der Propionsäurebakterien auf die Reifung von Emmentaler studiert und festgestellt: 1. die Menge des Propionsäurebakterienzusatzes, 2. den Gehalt des 24 Std. alten Käses an Propionsäurebakterien (Laktatagar), 3. das p_H, 4. das spezifische Gewicht des reifen Käses und 5. den Lochinhalt in Volumprozenten, beides bestimmt nach dem archimedischen Prinzip. Diese Ergebnisse wurden gegenübergestellt der Bewertung des Käses nach Lochgröße, Teig, Geschmack, Lochbeschaffenheit und Satz. Die Untersuchungen zeigten, daß der Gehalt an Propionsäurebakterien im jungen Käse weitgehend Beginn und Fortschreiten der Lochbildung beeinflußt und zusammen mit einer Reihe anderer Faktoren das Endvolumen der Lochung nach dem Gesetz des Minimums bedingt. Für zähschaffige Käse genügt eine Kulturmenge von $^1/_8$—$^1/_4$ Tropfen je Käse zum Ansatz des Labfermentes oder in den Kessel. Stärkerer Kulturzusatz führt zu keinen Geschmacksfehlern. *Janoschek (Weihenstephan).*

Jezerskij, A. und Bim-Bad, M., Papierdosen für die konservierte Milch. (Milch- u. Butterindustrie. H. 4. 1938. S. 20—22.) [Russisch.]

Die organoleptische Prüfung der in Dosen aus paraffiniertem Papier mit Blechdeckel aufbewahrten kondensierten Milch ergab vollkommen befriedigende Resultate. Die Untersuchung der Bakterienflora in den in Papier- und in gewöhnlichen Blechdosen aufbewahrten kondensierten Milch zeigte keine wesentlichen Unterschiede, wobei sich dies auf die chlorierten sowie auf die nicht chlorierten Papierdosen bezieht. *M. Gordienko (Berlin).*

Gstöttner, K., Untersuchungen über die bakterizide Wirkung einiger Melkfette. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jahrg. 49. 1938. S. 84—87.)

Es wurde die Wirkung verschiedener Melkmittel und Salbengrundlagen gegenüber Strept. agalactiae, Microc. aureus, Bact. abortus Bang und Bact. coli commune geprüft. Um festzustellen, ob und inwieweit organische Substanzen eine Hemmung auf die Desinfektionswirkung der Mittel ausüben, wurde ein Teil der Versuche mit in Kasein eingehüllten Keimen ausgeführt. Zu diesem Zweck wurde Milch nach der Infektion mit den Bakterien mittels Lab dick gelegt und 12 Std. bei 37° bebrütet; der Bruch wurde dann mit den zu prüfenden Substanzen gut verrieben. Die Beurteilung der Desinfektionswirkung erfolgte durch Ausstreichen von

etwa 1 cmm infizierter Substanz auf Blut-Agarplatten, und zwar nach einer Einwirkungsdauer von 5, 10, 20, 40 und 80 Min. und weiter nach 3 und 24 Std. Das Ergebnis ist folgendes:

Die stärkste bakterizide Wirkung entfaltete Weidnerit-Gel, durch das sämtliche Keime in allen Fällen innerhalb von 5 Min. abgetötet wurden. Die Melkcreme der Chemischen Werke Dr. Klopfer (Dresden) und noch mehr das Osmaron-Melkfett der I. G. Farbenindustrie wurden in ihrer Wirkung durch Kasein deutlich gehemmt. Das Formulsin-Melkfett der Fa. Zellenka (Wien) kommt für praktische Zwecke nicht in Frage (im Kaseinversuch überlebten die Streptokokken, Mikrokokken und Colibakterien eine 24stünd. Einwirkung).

Von den Salbengrundlagen erwies sich Schmierseife als ziemlich kräftig bakterizid (Abtötung aller Testkeime im Kaseinversuch innerhalb von 3 Std.). Erheblich schwächere Wirkung entfaltete Wollfett, eine eben noch feststellbare Wirkung Lanolin, Olivenöl und Lebertran. Völlig ohne Einfluß blieben Vaseline und Niveacreme.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Neumann, L. und Engelhard, C., Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf den Zuckerabbau bei der Hefegärung von alkalischen Würzen. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 61. 1938. S. 77—80, 85—91 u. 93—100.)

Bei der Vergärung von Malzwürze mit einer untergärigen Hefe wurde bei Zusatz von Alkali weder eine Förderung noch eine Hemmung des Zuckerabbaues festgestellt. Bei niedrigen Alkalinitätsstufen (p_H = 5,7—8,5) wurde der Zuckerabbau gar nicht beeinflußt. Bei höheren Alkalinitätsstufen (p_H = 8,5—10,8) wurde der Zuckerabbau anfangs deutlich gehemmt, verlief dann mit gleicher Schnelligkeit wie bei den niedrigen Alkalinitätsstufen, um gegen Ende der Hauptgärung deren Vorsprung einzuholen. Das Maximum des Zuckerabbaues lag also mit steigenden Alkalizugaben zeitlich etwas später. Bezogen auf den Rohmaltosegehalt des Jungbieres war auch bei den höchsten Alkalizugaben eine Hemmung des Zuckerabbaues nicht festzustellen. Oberhalb von p_H = 10,85 trat keine Gärung mehr ein. In der ersten halben Stunde wurde bei sämtlichen Würzen infolge hydrolytischer Spaltung des darin enthaltenen Rohrzuckers ein schwacher Anstieg des Rohmaltosegehaltes beobachtet, der durch Alkalizugaben beeinflußt wurde. Er erreichte bei einem Anfangs-p_H-Wert von etwa 6 seinen höchsten Wert, wurde mit steigenden Alkalimengen stärker gehemmt, um im p_H-Bereich über 10 unwesentlich zu werden. Bei p_H = etwa 8,0 zeigte die Saccharase etwa gleichgroße Aktivität wie bei p_H = 5,5, dem ursprünglichen p_H der Würzen.

Die p_H-Verhältnisse der gärenden Würzen wurden durch Alkalizugabe deutlich beeinflußt. Je höher der Anfangs-p_H-Wert der Gärprobe lag, desto größer war der p_H-Abfall, d. h. die Säureproduktion der Hefe. Sie reichte allerdings zur Neutralisation der zugesetzten Lauge nicht aus, die p_H-Minima der gärenden Würzen lagen mit steigenden Alkalizugaben in immer größer werdenden Abständen übereinander. Die p_H-Minima der alkalihaltigen Würzeproben fielen zeitlich ungefähr mit denen der alkalifreien Gärproben zusammen. Im Bereich der tiefsten p_H-Werte lag bei sämtlichen Würzeproben das Maximum der Gärtätigkeit. Nach Erreichung des Säuremaximums trat bei allen Gärproben am Ende der Gärung eine mehr oder minder deutliche Säureverminderung, d. h. ein p_H-Anstieg ein. Der Säureschwund verlief bei den einzelnen Würzen und deren alkalihaltigen Proben unregelmäßig. Den größten Säureschwund zeigten die mittleren Alkalinitätsstufen (p_H-Bereich um 7,5). Besonders auffällig war der zweite p_H-Abfall bei den Würzeproben, die nach dem Erreichen ihres Säuremaximums einen p_H-Anstieg bis etwa 4,8 erfuhren. Der zweite p_H-Abfall am Ende der Gärung verhielt sich ganz analog zu dem ersten zu Beginn der Gärung: je höher der Anfangs-p_H-Wert lag, desto größer war der p_H-Abfall. Der zweite p_H-Abfall war nicht so groß wie der erste.

In reiner Maltoselösung, die zum Vergleich mit herangezogen wurde, verlief der Zuckerabbau langsamer als bei gärender Würze. Schon kleine Alkalizugaben ließen eine deutliche Verzögerung des Zuckerabbaues erkennen, nach 48stünd. Gärdauer war aber auch hier, bezogen auf den Maltosegehalt der gegorenen Zuckerlösung, eine gärungshemmende Wirkung des Alkali nicht festzustellen. Das Fehlen jeglicher Pufferstoffe ließ den p_H-Wert schneller und tiefer sinken als bei den Würzen. Die p_H-Minima lagen etwas später als bei den Würzen. Eine Säureverminderung nach der Hauptgärung sowie ein zweiter p_H-Abfall bei den höheren Alkalinitätsstufen waren auch hier zu beobachten.

Heuß (Berlin).

Scholler, Die Erzeugung von Hefeeiweiß aus Holz als Rohstoff. (Chemiker-Ztg. Bd. 62. 1938. S. 804.)

In Deutschland arbeiten bereits mehrere Anlagen zur Holzverzuckerung nach dem Perkolationsverfahren von Verf., das verdünnte Säure bei erhöhter Temperatur verwendet und in bezug auf das Rohmaterial sehr anspruchslos ist: es können alle Arten von Holzabfällen verwendet werden, ohne daß eine vorherige Trocknung notwendig ist. 1937 wurden 10 000 t Zucker erzeugt, für 1938 rechnet man mit 15 000 t. Der Zucker fällt in Lösung an und wird bisher auf Alkohol vergoren. In neuen Anlagen soll seine Weiterverarbeitung auf Hefeeiweiß erfolgen. An Ausbeute erhält man aus 100 kg Holz 50 kg Zucker und hieraus 25 kg Trockenhefe mit 12 kg Eiweiß. 100 kg Holzabfälle liefern also etwa die gleiche Eiweißmenge, die in 100 kg Fleisch enthalten ist. *Heuß (Berlin).*

Nord, F. F., Zur Biochemie der alkoholischen Gärung. (Chemiker-Ztg. Bd. 62. 1938. S. 769—772.)

Durch die Untersuchungen der letzten Jahre über die Biochemie der Fusarien wurde der Forschungsbereich der alkoholischen Gärung von Hexosen, Pentosen einerseits, der Dehydrierung von Alkoholen andererseits wesentlich erweitert. Bei praktisch mit der Hefe übereinstimmenden stöchiometrischen Leistungen wurde es dadurch möglich, die Wirkung von Enzymen in lebenden Zellsystemen auf die genannten Substrate zu studieren und so von lückenhaft arbeitenden, gestörten, in der Phasenfolge ihrer Wirkungen von der natürlichen Ordnung des lebenden Protoplasmas nachweislich abweichenden Systemen unabhängig zu werden. Das System von Fusarium lini Bolley, dem Erreger des Flachsbrands, hat den großen Vorzug, daß der Reaktionsverlauf langsam und dementsprechend gedehnter ist. Damit ist die Möglichkeit gegeben, in den Chemismus und die Kinetik gerade der ersten Phasen der Dissimilation der Kohlenhydrate Einblick zu gewinnen, der bei dem raschen Verlauf bei der unversehrten Hefezelle praktisch sehr erschwert ist.

Sowohl mit lebenden Zellen als auch mit Trockenpräparaten von Fusarium lini Bolley fand man einwandfrei, daß der Vergärung eines Kohlenhydrats (sowohl Hexosen als Pentosen) eine Veresterung von freiem anorganischem Phosphat nicht voranzugehen braucht, sondern daß die Auflockerung des Zuckermoleküls wahrscheinlich durch ein Spreizen oder Deformieren der Bindungen der Substratmoleküle durch die Adsorptionskräfte der Enzymoberflächen vorangeht. Die Veresterung kann aber im späteren Verlauf der Reaktion eintreten und trotz der Phosphatasewirkung festgehalten werden. Den organischen P-Donatoren wird von Verf. lediglich eine Funktion beim Zellneubau zugeschrieben, sie sind ohne Einfluß auf die Geschwindigkeit des Kohlenhydratabbaues.

Maltose wird von Fusarium lini langsamer und unregelmäßiger vergoren als Glukose. Der Flachsbranderreger enthält auch eine Glukoseoxydase, die bisher nur bei säurebildenden Aspergillaceen, Penicillien und anderen Myzelpilzen gefunden wurde. Auch Dextrin wird von ihm unter Bildung von Alkohol und Kohlensäure vergoren. *Heuß (Berlin).*

Castelli, T., Nuovi blastomiceti isolati da mosti del chianti e zone limitrofe. (Arch. f. Mikrobiologie. Bd. 9. 1938. S. 449—468.)

Aus Traubenmost des klassischen Chianti-Gebiets und seiner Umgebung wurden Hefen isoliert, die folgende neue Arten bzw. Varietäten ergaben: Saccharomyces italicus nov. spec., soweit heute mit Sicherheit bekannt die einzige Art der 3. Gruppe der Hansenschen Klassifikation der Gattung Saccharomyces. Sacch. ellipsoideus var. maior nov. var., vom Typ durch die konstant größeren Zellen und Sporen verschieden. Sacch. oviformis var. bisporus nov. var., Asken mit fast immer 2, nie mehr, Sporen. Zygosaccharomyces florentinus nov. spec. als Übergang zwischen Torulospora und Zygosaccharomyces, mit seltenen, parthenogenetisch sich bildenden Asken, die nur selten das Ergebnis einer Kopulation sind. Zygopichia chiantigiana nov. spec. bildet keinen Alkohol und hat bei der Weinbereitung keine Bedeutung. *Rippel (Göttingen).*

Ribereau-Gayon, J., Les bacteries du vin et les transformations quelles produisent. (Bull. Assoc. Chimist. T. 55. 1938. p. 601—656.)

Die wichtigen Untersuchungen von Müller-Thurgau und Osterwalder über die Bakterien im Wein, sind in Frankreich fast unbekannt geblieben, weshalb Verf. die Ergebnisse dieser Forscher im Auszug wiedergibt in Verbindung mit eigenen Untersuchungen. Die Weinbakterien sind in der Hauptsache für den Wein schädlich, weil sie oft tiefgreifende Veränderungen in ihm hervorrufen. Sie können Säuren bilden oder im Wein schon vorhandene Säuren zerstören. Letztere Eigenschaft ist für den Weinausbau u. U. aber von größtem Vorteil, weil durch Bakterienwirkung ein zu hoher Säuregehalt abgebaut werden kann. Sie kann aber in säurearmen Weinen, wie sie in den hohen Qualitätsgebieten vorkommen, auch sehr unangenehm sein. In solchen Fällen muß dann der Säureabbau durch Schwefelung unterbunden werden. Alles in allem spielen die Bakterien in der Önologie heutzutage eine entscheidende Rolle.

K. Müller (Freiburg i. Br.).

Arnaudi, C., Ricerche sui microorganismi acidificanti dei foraggi insilati. [Untersuchungen über die säurebildenden Mikroorganismen des Silofutters.] (Atti Reale Accad. Naz. Lincei. Bd. 28. Heft 5/6. 1938. S. 157—164.)

In dieser Arbeit bestätigt Verf. folgendes: die gewöhnlichen milchsäurebildenden Mikroorganismen sind nicht die wichtigsten Erreger der natürlichen Einsäuerung des Silofutters. Den wichtigsten Bestandteil der normalen säurebildenden Mikroflora des Grünfutters bildet eine Gruppe von Mikroorganismen, die dem Lactobacillus pentoaceticus Fred. sehr nahesteht, und die in der Natur auf den Futterpflanzen sehr verbreitet ist (an dem Prozesse nehmen sehr wahrscheinlich auch einige Mikrokokken teil). Diese Mikroben greifen die Laktose fast gar nicht an, wohl aber die Arabinose und die Xylose; ihr Einsäuerungsvermögen ist ein sehr hohes. Der optimale Wert des p_H für das Einstellen des Prozesses ist 5,5; während des Verlaufs desselben wird der Wert bis zu 3,4—3,2 herabgesetzt. Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese Mikroorganismen imstande sind, auch Xylan zu zersetzen. Aus Kleinversuchen mit Mikrosilos geht hervor, daß die besten Resultate mit gepreßtem Futter erzielt werden, dem Melasse und Kulturen von säurebildenden Mikroben zugegeben werden. *Pesante (Rom).*

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Fischer, A., Die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge der Lupinen im Zusammenhang mit dem Anbau der Süßlupinen (S. E. G.) in Deutschland. (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 84—91.)

Physiologische Krankheiten sind in dieser kurzen Übersicht außer acht gelassen. Der Blattrandkäfer (Sitona grisea Fb. und lineata L.) ist der wichtigste tierische Schädling, er befällt mit Vorliebe die blaue Süßlupine, die Käfer fressen die Blätter, die Larven die Wurzelknöllchen. Die Imagines haben ihren natürlichen Feind in Botrytis bassiana Montagne (?). In Betracht kommen noch die Rübennematode Heteroda Schachti Schm. und die Lupinenfliege Chortophila funesta Kühn. Von untergeordneter Bedeutung sind Milbenspinne, Zwergzikade, Drahtwurm, Erdraupe und Roggenälchen. Unter den Pilzen spielen verschiedene Erysiphe- und Uromycesarten eine Rolle, ihr Auftreten wird durch feuchte Jahre stark begünstigt, wie dies auch für den besonders gefährlichen Erreger der Wurzelbräune der Fall ist. Die Bekämpfung muß durch Wechsel der Anbauflächen und häufigen Wechsel der Fruchtfolge vorgenommen werden. Gelegentlich können noch die Stengelkrankheit (Cryptosporium leptostromiforme Kühn) und Ceratophorum setosum, Pythium debaryanum, Ascochyta lupinicola Petr. und Botrytisarten größere Schäden verursachen. Unter den Viruserkrankungen ist dem Virus der Lupinenbräune besondere Beachtung zu schenken, da dieses einmal die drei wichtigsten Arten für die Süßlupinenkultur befällt, dann aber auch auf Tomaten und Gurken vorkommt. Beim Anbau muß daher auf genügende Entfernung der Lupinenfelder von denjenigen der Tomaten und Gurken geachtet werden, da das Virus leicht durch Aphis rumicis L. und Mycus persicae Sulz. übertragen wird. Es scheint eine große Verbreitung innerhalb der Papilionaceen zu haben, da es auf Trifolium pratense, Pisum- und Lathyrusarten gefunden wurde, es ist ferner identisch mit Cucumber Virus 1 und dem englischen Gelbsprenkelmosaik. Schließlich kommen noch Bacillus elegans, B. leguminiperdus, B. caulivorus, B. lathyri als Erreger von Bakteriosen für Lupinenschädigungen in Betracht. Glücklicherweise sind die durch sie hervorgerufenen Verluste nicht so hoch wie durch Tiere und Pilze. Die Frage resistenter Formen ist noch gänzlich ungeklärt. Hierzu müßten Versuche mit Artkreuzungen verschiedener Richtung (Süßlupinen untereinander und mit Wildformen) gemacht werden.

Skallau (Berlin).

Müller, K. O., Phytopathologie und gärtnerische Pflanzenzüchtung. (Forschungsdienst. Bd. 4. 1937. S. 357—363.)

Es wird darauf hingewiesen, daß heute mehr denn je die Zusammenarbeit zwischen Pflanzenzüchter und -pathologe erforderlich ist. Dabei bleibt es nicht aus, daß Grenzgebiete neben der obenanstehenden Ätiologie in den Arbeitskreis einbezogen werden müssen, wie z. B. die Genetik. Die hier in Frage kommenden Faktorenkomplexe sind die genetischen Reaktionspotenzen (Johannsen), und die edaphischen nebst klimatischen Umweltfaktoren, deren Wert an dem Beispiel des verschiedenen Verhaltens gleicher Apfelsorten gegenüber der Blutlaus dargelegt wird. Als dritter Faktor spielt die spezifische Virulenz des Parasiten noch eine maßgebliche Rolle. Infolgedessen

muß hier auch von der hygienischen Seite her die Bekämpfung in Angriff genommen werden, was durch blutlausfreie Anzucht usw. zu geschehen hat. Von der züchterischen Seite her müssen ferner die Bekämpfung des Mehltaues, des Schorfes in Angriff genommen bzw. fortgeführt werden, auch bezüglich der Bekämpfung der Kirschfruchtfliege läuft das Problem letzten Endes auf die Zucht resistenter Sorten hinaus. Von nicht zu unterschätzender Bedeutung sind entsprechende Züchtungsversuche auf dem Gebiet des Gemüsebaues, z. B. bei der Bekämpfung der Fettfleckenkrankheit der Bohne. Daß ohne Zweifel rein genetische Untersuchungen schon zum Ziel führen können, hat die Aufzucht krebsfester Kartoffelsorten gezeigt und scheinen neuerdings auch die Untersuchungen zur Bekämpfung des falschen Mehltaues des Kopfsalates zu beweisen. Auf der anderen Seite kann der Phytopathologe dem Sortenkundler ebenso wie dem Saatzuchtleiter gute Dienste leisten. *Skallau (Berlin).*

Peters, G., Zum Thema: „Neue Schädlingsbekämpfungsmittel.“ (Chemiker-Zeit. Bd. 63. 1939. S. 41—43.)

Häufig liest man auch in ernsthaften Zeitschriften übertriebene Schilderungen über die Wirksamkeit von Insektiziden, die nachträglich Anlaß zu Enttäuschungen geben. Maßgebend für die Beurteilung kann aber nur die vergleichende, d. h. einordnende Bewertung eines Mittels sein, d. h. der Vergleich mit dem schon Erprobten. Die Wirksamkeit eines Giftgases hängt ab von der Konzentration und der Einwirkungszeit. Zum direkten Vergleich der Wirksamkeit dient die „Grammstundeneinheit“, mit der die Funktionen von Konzentration und Zeit auf einen gemeinsamen Nenner gebracht werden. Voraussetzung für die Brauchbarkeit derartiger Diagramme ist, daß sich alle Beobachtungen auf den gleichen Schädling bzw. die gleiche Entwicklungsstufe eines Schädlings beziehen und bei gleicher Temperatur vorgenommen werden. *Heuß (Berlin).*

Peters, G., Chemisch-biologische Grundlagen der Unterdruck-Schädlingsbekämpfung. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 52. 1939. S. 177—178.)

Die Empfindlichkeit der Insekten gegen bestimmte Giftgase hängt sehr vom Druck bzw. Unterdruck ab. Durch hohes Vakuum kann sie so gesteigert werden, daß 100 proz. Abtötung schon mit Konzentrationen und Einwirkungszeiten möglich ist, die bei Atmosphärendruck völlig wirkungslos sind. Eine Wirkungssteigerung bei Unterdruck ist nur bei Gasen möglich, die die Respiration nicht oder kaum beeinflussen. Zu beachten ist die Unabhängigkeit der Insekteneier in ihrer Giftempfindlichkeit vom Druck bzw. Unterdruck. Zur Vakuumbegasung sind daher Gase zu verwenden, die bei Atmosphärendruck die Eier schon in Konzentrationen vernichten, die auf die Imagines noch unwirksam sind. Durch den Unterdruck wird die Wirksamkeit gegen letztere so gesteigert, daß der Vorsprung, den die Eier normalerweise haben, eingeholt wird. Zur Steigerung der Wirksamkeit der Unterdruckbegasung müssen Stoffe mit möglichst geringer Adsorptionsneigung und hoher Insektizität gesucht werden. Die Tiefenwirkung kann durch Anwendung eines Kreislaufs des Gas-Luft-Gemisches oder durch Pulsationen des Unterdrucks gesteigert werden.

Heuß (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Gill, D. L., Geranium Cutting Rots and their Control. (Florists Exchange a. Horticult. Trade World 1936.)

Als Erreger der Stecklingsfäule verschiedener Pelargonien-Arten wurden Pythium ultimum Trow, Pythium debaryanum Hesse, Pythium mamillatum Meurs, Rhizoctonia solani und Botrytis vom cinerea-Typ ermittelt. Zur Bekämpfung dienten pflanzenhygienische Maßnahmen und Bodendesinfektion mittels Dämpfung oder Behandlung mit Formalin, 1proz. Essigsäure und organischen Quecksilberpräparaten. Auch die Verwendung von trocknem oder aufgelöstem Kupferkarbonat erwies sich als günstig. Die Stecklinge selbst konnten durch Bepudern der Schnittfläche mit Zinkoxydpulver gegen Infektion geschützt werden. Versuche über den Einfluß der Bodentemperatur und -feuchtigkeit auf den Befall zeigten, daß die Stecklinge um so schneller faulten, je höher die Temperatur war. Eine Wirkung größerer Bodenfeuchtigkeit (85% der Wasserkapazität) war nicht erkennbar. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Muskett, A. E., A study of the Epidemiology and Control of Helminthosporium Disease of Oats. (Ann. Bot. N. S. Vol. 1. 1937. p. 763—784.)

Zunächst konnte festgestellt werden, daß verschiedene Bodentypen auf das Auftreten dieses Getreideschadpilzes in Irland keinen Einfluß ausüben, es war gleichgültig, ob das Saatgut auf einem schweren Lehmboden oder einem sandigen Lehm bis lehmigen Sand eingebracht wurde. Dagegen spielten eine Reihe physikalischer Bedingungen eine bedeutsame Rolle: Bodenfeuchtigkeit und -temperatur insbesondere. Auftreten und Stärke des Pilzes gehen unter feuchten Bodenbedingungen und erhöhter Temperatur zurück (6,6—13,6°), während Trockenheit eine Verschlimmerung des Befalls herbeiführt. So konnte z. B. bei einer bestimmten Hafersorte, die 60 proz. Befall hatte, auf einem kalten trocknen Boden ein 56 proz. Keimlingsbefall hervorgerufen werden, während auf dem gleichen, aber warmen und feuchten Boden nur 15 proz. Befall erschien. Die Bodenfeuchtigkeit wird erst bei steigender Austrocknung des Bodens zum begrenzenden Faktor, sonst ist die Temperatur der ausschlaggebende Faktor. Unter niedrigen Temperaturen in feuchten Böden und hohen Temperaturen in trocknen Böden sind die Frühstadien der Krankheit stark ausgeprägt. Im übrigen wurden die Ergebnisse früherer Arbeiten von MacKay, Muskett and Cairns, O'Briens and Prentice bestätigt. Trockne Beizung mit Quecksilbersalzen erwies sich zur Desinfektion vorzüglich geeignet. *Skallau (Berlin).*

Cralley, E. M., and Tullis, E. C., Effect of seed treatment on seedling emergence, severety of seedling blight, and yield of rice. (Arkansas Agr. Exp. Stat. Bull. 345. 1937. 24 p.)

Unter dem Begriff „Rice seedling blight" wird eine Gruppe von Krankheiten zusammengefaßt, die eine Schädigung junger Reissämlinge während des Auflaufens verursachen. Von diesen werden die folgenden mit dem Samenkorn übertragen: Helminthosporium oryzae Brede de Haan, Trichoconis candata (Ap. et Str.) Clem., Curvularia lunata (Wakker) Boedijn, Fusarium spp. und Phoma spp. Außer mit diesen an Reis pathogenen Pilzen wurden positiv verlaufende Infektions-

versuche mit Rhizoctonia sp. und Pythium sp. durchgeführt. Ein Befall der keimenden Samen trat im allgemeinen bei niedrigen Temperaturen (ca. 18—22°) ein. Die Pilze verhielten sich in ihren Temperaturansprüchen nicht einheitlich: Helminthosporium schädigte bei niedriger, Fusarium bei höherer Temperatur am meisten.

Zur Bekämpfung dieser Krankheiten wurden Bestäubungsversuche mit Formaldehyd, Kupferoxyd und Äthylquecksilberphosphat durchgeführt. Die Ergebnisse waren so wenig befriedigend, daß eine Bekämpfung der Krankheiten mit diesen Mitteln nicht möglich ist. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Ray, W. W., Overwintering Taphrina robinsoniana. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 919—922, 1 fig.)

Histologische Untersuchungen an weiblichen Blütenkätzchen von Alnus incana in der Winterruhe ergaben, daß diese kein Myzel von Taphrina robinsoniana enthielten. Wurden die Kätzchen in lichtdurchlässiges Papier eingeschlossen, so blieben sie gesund. Es wurde ferner festgestellt, daß die Sporen von der Zeit des Ausschleuderns bis zur Infektion lebensfähig blieben. Anwendung von Schwefelkalkbrühe 1 : 40 setzte den Befall wesentlich herab. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Drummond, O. A., Notas sobre o combate á septoriose do tomateiro. (Rodriguesia. Bd. 2, Sondernummer. 1937. S. 333—336.)

Einprozentige Bordelaiser Brühe und Nosprasit haben sich zur Bekämpfung der Septoriose der Tomate (Septoria lycopersici) als geeignet erwiesen. Die Behandlung muß während der Vegetationszeit mehrfach wiederholt werden. Entsprechend den Witterungsbedingungen soll die Behandlung in 15—20tägigen Abständen erfolgen. Erst die mehrfache Verwendung verbürgt den Erfolg, so zeigt ein Vergleich zwischen ein- und fünfmaliger Anwendung einen Ertragsunterschied von mehr als 100%. Eine Rentabilitätsberechnung ergab, daß die Kosten für die mehrfache Anwendung durch die Erntesteigerung um ein Vielfaches aufgewogen werden.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Rombouts, J., Algumas palavras sobre uma molestia cryptogamica, prejudicial aos tomateiros, na Bahia, causada por „Septoria lycopersici" Speg. (Rodriguesia. Bd. 2. 1937. S. 45—49.)

Die Septoriose ist in allen Ländern Amerikas bekannt, die Tomatenbau betreiben, und ruft beträchtliche Ernteverluste hervor. Der jährliche Ernteausfall in den Vereinigten Staaten wird allein auf 250 000 Tonnen beziffert. Der Pilz befällt die Blätter und die Früchte. In der Regel setzt der Befall zuerst an den unteren Blättern ein, auf denen sich dann kleine, anfänglich hellbraune, später größere, aschfarbene Flecken zeigen. Virusinfizierte Pflanzen scheinen mit Vorliebe befallen zu werden. Das Blatt nimmt schließlich eine dunkelbraune bis schwarze Färbung an, um im welken Zustande noch längere Zeit an der Pflanze herabzuhängen. Gelegentlich kommt es zur vollständigen Entblätterung der Pflanze. Um der Krankheit vorzubeugen, wird vorgeschlagen, die Kultur der Tomate bei Temperaturen von über 27° C, der maximalen Temperaturgrenze für das Wachstum des Pilzes, durchzuführen. Wichtig ist auch die Vernichtung aller befallenen Pflanzenteile, da der Pilz auf abgestorbenem Gewebe sich noch lange Zeit am Leben erhält und damit eine ständige Infektionsquelle darstellt. Für die direkte Bekämp-

fung wird Bordelaiser Brühe in einer Konzentration von 3% vorgeschlagen. Höhere Konzentrationen schädigen das Blatt der Tomate.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Lyle, E. W., and Massey, L. M., Control of Stem and Graft Canker of the Rose. (Amer. Rose Ann. 1938. p. 142—145.)

Die Infektion der Rosen durch Coniothyrium fuckelii Sacc. erfolgt durch Wunden. Dabei dienen die beim Schneiden stehenbleibenden Stümpfe als Eingangspforten für den Pilz. Zur Verhütung der Infektion wird daher empfohlen, dicht über den Blattachsen bzw. Verzweigungsstellen zu schneiden, damit kein totes Holz entstehen kann. Als Bekämpfungsmaßnahme gegen den Pfropfkrebs (Graft Canker Disease) wird ebenfalls die Vermeidung von Stümpfen über der Pfropfstelle angeraten. Eine Bekämpfung der Krankheit durch Fungizide ist nicht möglich. — Bei der genannten Art der Bekämpfung ist jedoch nach Meinung des Ref. zu berücksichtigen, daß es durch die Vermeidung von Stümpfen an den Schnittstellen leicht zum Austrocknen des Holzes unterhalb der Blattachsen kommen kann.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Jenkins, Anna E., and Massey, L. M., Rose Anthracnose. (Amer. Rose Ann. 1938. p. 136—141.)

Die über die ganze Erde verbreitete Anthraknose der Rosen wird durch den Pilz Sphaceloma rosarum (Pass.) Jenkins verursacht. Die Krankheit tritt an Blättern und Stengelteilen in Form von braunen Flecken mit lebhaft dunkelbraunem Rand auf. Später wird das Gewebe im Innern der Flecke hell durchscheinend. In der Umgebung der Flecke zeigt die Blattspreite gelbe oder rote Verfärbungen. Auf den Stengelflecken bilden sich nach Überwinterung Acervuli mit einzelligen Sporen. Zur Bekämpfung wird empfohlen, die erkrankten Blätter zu vernichten und die Rosen mehrmals mit Fungiziden zu spritzen. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Taylor, C. F., and Blodgett, F. M., Control of a wilt disease of potato by Formaldehyde dust. (Amer. Potato Journ. Vol. 14. 1937. p. 154—157.)

Gegen die durch Fusarium eumartii Carpenter hervorgerufene Welkekrankheit der Kartoffel, die im Staate New York erheblichen Schaden verursachte, wurden Bekämpfungsversuche mit Formaldehyd und Sublimat durchgeführt. Erfolgreich war die Behandlung der Knollen mit Formaldehyd-Pulver (1 Teil Handelsformalin + 4 Teile ungebranntes „Celite") kurz vor dem Auslegen. Bei heißem Wetter entstanden dabei allerdings leicht Schäden.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Goss, R. W., and Afanasiev, M. M., Influence of Crop Rotations under Irrigation on Potato Scab, Rhizoctonia, and Fusarium Wilt. (Nebrasca Agr. Exp. Stat. Bull. 317. 1938. p. 1—18.)

Es wurde der Einfluß untersucht, den ein 1- bis 7jähriger Fruchtwechsel bei künstlicher Bewässerung auf den Befall der Kartoffeln mit Schorf, Rhizoctonia und Fusarium-Welke ausübt. Außer Kartoffeln wurden Zuckerrüben, Getreide, Hafer und Luzerne angebaut. Außerdem wurde die Wirkung des Stalldungs auf das Auftreten der Krankheiten geprüft. Das Ergebnis der Untersuchungen war folgendes: Schorf trat am stärksten auf nach kurzem Fruchtwechsel mit Zuckerrüben, am schwächsten nach 4- bis 6jährigem Turnus mit Luzerne als Vorfrucht. Durch eine Stallmistgabe

erhöhte sich die Anzahl der schorfigen Knollen. Rhizoctonia war am stärksten bei dauerndem Kartoffelbau oder kurzfristigem Wechsel, am geringsten nach langjährigem Fruchtwechsel. Stallmistgaben verringerten den Befall bei kurzem Wechsel. Der höchste Prozentsatz welkekranker Stauden wurde nach 2jährigem Fruchtwechsel mit Getreide beobachtet. Ebenso wie die anderen Krankheiten war der Fusarium-Befall nach langjährigem Fruchtwechsel gering. *Schultz (Berlin-Dahlem).*

Clark, C. F., Stevenson, F. J., and Schaal, L. A., The inheritance of scab resistance in certain crosses and selfed lines of potatoes. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 878—890; 3 figs.)

Die Sorte Green Mountain erwies sich als anfällig für Schorf. Katahdin ist zwar auch anfällig, doch trägt die Sorte einen Faktor für Resistenz in sich. Hindenburg und Ostragis sind wahrscheinlich homozygotisch resistent, Sämling 44 537 und Richters Jubel heterozygotisch. Es scheint eine genetische Beziehung zwischen braunroter Farbe und Resistenz zu bestehen. In einer Kreuzung waren die Faktoren für Resistenz unabhängig von roter oder weißer Knollenfarbe. Verf. erhielt braunrote, rote oder weißschalige Typen, die resistent gegen den Schorf waren. Einige von den erhaltenen Sämlingen erreichten in bezug auf Stand und Ertrag bekannte Handelssorten, waren jedoch sonst diesen unterlegen. *Winkelmann (Münster i. W.).*

Foëx, E., et Lansade, M., Une bacteriose du Bananier. (Compt. rend. des séances de l'Acad. des Sci. T. 202. 1936. p. 2173.)

Verff. beschreiben eine Bananenkrankheit, die an einer Adernschwärzung zu erkennen ist, meist am Vegetationspunkt beginnt, um dann auf den Stengel überzugreifen, und das Wachstum der Pflanzen unterbindet. Aus dem erkrankten Gewebe konnte ein Pilz isoliert werden, Fusarium moniliforme Sheld. subglutinans Wr. et Rg., der sich jedoch bei der künstlichen Infektion nur als schwach pathogen erwies und nicht die Symptome der ursprünglichen Krankheit hervorrief. Daneben wurden auch zahlreiche Bakterien gefunden, worunter sich eine stark pathogene Art befand, die an der Banane die gleichen Krankheitserscheinungen hervorrief, wie sie ursprünglich beobachtet werden konnten. Dieser Erreger wird in seinen morphologischen und biochemischen Eigenschaften beschrieben und als Bacterium Maublancii nov. sp. bezeichnet.

Bortels (Berlin-Dahlem).

Foëx, E., et Lansade, M., Action pathogène d'une bactérie isolée de tubercules de pommes de terre. (Compt. rend. des séances de l'Acad. des Sci. T. 202. 1936. p. 1939.)

Aus welkekranken Kartoffeln wurde ein Bakterium isoliert und beschrieben, das nach Stapp identisch ist mit Bact. xanthochlorum Schuster. In einer Reihe von Versuchen konnten mit diesem Bakterium ober- und unterirdische Teile zahlreicher Arten aus den beiden völlig verschiedenen Familien der Solanaceen und der Leguminosen infiziert werden. Die Reisolierung gelang in allen Fällen. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Rainio, A. J., Über die desinfizierende Wirkung des Ozons auf einige phytopathogene Bakterien. (Journ. of the Sci. Agric. Soc. of Finland. Bd. 8. 1936. S. 123—128.)

Mit ozonisierter Luft konnten einige phytopathogene Bakterien, die bekanntlich keine Sporen bilden, getötet bzw. in ihrer Vermehrung und ihren Lebensäußerungen gehemmt werden. In der Praxis stehen der An-

wendung eines solchen Verfahrens jedoch noch große Schwierigkeiten im Wege. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Grillo, H. V. S., Observação sobre uma doença de orchideas. (Rodriguesia. Bd. 3. 1937. S. 247—251.)

Es wird hier auf eine Krankheitserscheinung hingewiesen, die nur geringfügig schädigend an Cattleya bicolor und in stärkerem Maße schädigend an C. autumnalis beobachtet wurde. Eine weitere Orchidee, bekannt unter dem Vulgärnamen „Sumaré", zeigte kleine schwarze Punkte und Flecken auf den Blättern. Es wird vermutet, daß es sich hierbei um bakterielle Erkrankungen handelt. Das Literaturstudium über bakterielle Orchideenkrankheiten ermöglichte keine eindeutige Klärung dieser Frage. Verf. beschreibt eingehend die Isolation des Erregers und sein Verhalten auf verschiedenen Nährsubstraten, seine Säureresistenz u. a. Infektionsversuche konnten bisher nicht durchgeführt werden. Es ist beabsichtigt, die Arbeiten fortzuführen, um den Erreger zu bestimmen, ihn mit den Beschreibungen anderer Autoren zu vergleichen und den Nachweis seiner Pathogenität zu erbringen. Es wird angeraten, stark befallene Pflanzen zu vernichten bzw. zu verbrennen, schwach infizierte Pflanzen mit einer 2proz. warmen Formollösung zu behandeln. *M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).*

Köhler, E., Viruskrankheiten und Kartoffelzüchtung. (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 334—338.)

Die Viruserkrankungen der Kartoffel verursachen in Deutschland immer noch beträchtlichen Schaden, der um so gefährlicher ist, als einerseits die Erkennung der Krankheit erschwert ist, andererseits die Züchtung resistenter Sorten noch nicht gelungen ist. Unter diesen Erkrankungen sind die echte Blattrollkrankheit und das Strichel-Mosaik-Virus für Deutschland nicht nur, sondern für Europa die gefährlichsten. Weniger bösartig ist das A-Mosaik-Virus, während das 4. Virus, nämlich X-Virus zwar seinem Vorkommen nach bedeutend in Erscheinung tritt, jedoch zum Glück die Ernteerträge bei den meisten Sorten nicht herabmindert. Die ersten 3 genannten Arten werden fast ausschließlich durch die Pfirsichblattlaus (Myzus persicae) übertragen, bei der 4. Art ist die Übertragung noch unbekannt, hier ist auch die geographische Verbreitung anders gelagert. Bodenübertragungen kommen, soweit bisher bekannt, für alle Virusarten nicht in Frage. Alle anderen Virusarten spielen keine Rolle. Die Bekämpfung muß sich zunächst auf eine Verhütung der Ansteckung richten, wie Vernichtung viruskranker Pflanzen, Anbau gesunder Knollen, Vermeiden des Überständigwerdens, möglichste Fernhaltung von Pfirsich- und Weißkohlpflanzungen aus Saatzuchtgebieten, Ausräucherung der Lagerkeller usw. Die Beurteilung des Gesundheitszustandes der Kartoffelknollen kann leicht nach der vom Verf. ausgearbeiteten „Augenstecklingsprobe" geschehen, die sich an die amerikanische „Tuber-index-Methode" anlehnt. Vorteilen, wie leichte Feststellung der Infektionsgefährdung, der Häufigkeit des Befalls, von Anfälligkeit, maskierter Erkrankungen stehen jedoch noch einige Nachteile gegenüber: nicht immer wird das Virus in einer Knolle erfaßt, da es in ihr ungleichmäßig verteilt sein kann; die einzelnen Sorten verhalten sich auch verschieden gegen Virus. Bei der Züchtung virusresistenter Sorten ist zwischen Abwehr- und Toleranzresistenz zu unterscheiden. Da die letzte jedoch nur eine Notlösung darstellt, wegen steter Ansteckungsgefahr für anfällige Sorten, muß systematisch die Abwehrresistenz gesteigert werden. Die Erfahrung hat gezeigt, daß es nur wenige Sorten gibt, die gegen Blattrollkrankheit und

A-Virus stärker widerstandsfähig sind. Hierher gehören: Parnassia, Flava, Feuergold, Jubel, schließlich Ackersegen und Konsuragis. Verf. ist der Meinung, daß durch bewußt geführte Kreuzungen sich hochresistente Sorten heranziehen lassen.

Skallau (Berlin).

Youden, W. J., Use of incomplete block replications in estimating tobacco-mosaic virus. (Contrib. Boyce Thomps. Inst. Vol. 9. 1937. p. 41—48.)

Yates beschrieb 1936 eine Methodik der unvollständigen Permutationen (incomplete blocks), die vom Verf. für die Bestimmung der Infektionskraft von Viruspräparaten abgeändert wurde, um gleichmäßige Arbeitsbedingungen und besser reproduzierbare Werte zu erhalten. Seine Neuaufstellung von Permutationen wurde an je 5 Blättern von je 21 Pflanzen von Nicotiana glutinosa L. ausprobiert. Zu diesem Zwecke bekamen die Blätter Einreibungen von 7 verschiedenen Lösungen des kristallinen Tabak-Mosaikvirus, die Ausgangslösung enthielt 1,2 mg Kristalle/Ltr., die nachfolgenden Konzentrationen bildeten eine geometrische Reihe (Faktor 1/2). Teils waren die Injektionen mit Wasser, teils mit 0,05 bzw. 0,1 molarem, neutralem Phosphatpuffer angesetzt. Nach dem neuen Verfahren wurden 105 Werte (Auszählungen von Flecken) erhalten, die z. T. beträchtliche Abweichungen voneinander zeigen. Der Beitrag an Freiheitsgraden der einzelnen Testpflanzen und Blattstellungen zu der Veränderlichkeit der beobachteten Zählungen war beträchtlich: Blattstellung 4, Pflanzen 20, Lösungen 20, Fehler 40! Freiheitsgrade. Die Standardabweichung eines einzelnen Blattes beträgt bis zu 40% des gesamten Durchschnittes und kennzeichnet die Schwierigkeiten der richtigen (eindeutig erkennbaren) Fleckenzählung.

Skallau (Berlin).

Youden, W. J., Dilution curve of tobacco-mosaic virus. (Contrib. Boyce Thomps. Inst. Vol. 9. 1937. p. 49—58.)

Gelegentlich früherer Untersuchungen war aufgefallen, daß bei Anwendung des Exponentialgesetzes, das die Beziehungen zwischen Viruskonzentration und der Zahl der möglichen auftretenden Flecken (Läsionen) regelt, sich Abweichungen ergeben, die besonders bei der Verwendung hoher und niedriger Viruskonzentrationen in Erscheinung treten. Die nähere Untersuchung dieses Befundes zeigte jetzt, daß die Unterschiede zwischen der Zahl der tatsächlich beobachteten und der errechneten Flecken von der Anwendung geometrischer Verdünnungsreihen herrühren, die Abstände der sich durch eine Zehnerpotenz unterscheidenden Verdünnungsgrade sind zu groß. 20 Verdünnungsreihen von Stanleys kristallinem Tabak-Mosaikvirus, die sich durch arithmetische Progression voneinander unterschieden, wurden auf ihre Infektionskraft bei Nicotiana tabacum L. var. Turkish geprüft. Die Verteilung der Testlösungen wurde nach vier verschiedenen Methoden permutiert, wobei u. a. auch die kürzlich beschriebene Methode der unvollständigen Blocks (incomplete block) zur Anwendung gelangte. Die Auszählung der aufgetretenen Flecken ergab eine wesentlich bessere Übereinstimmung der Theorie mit der Beobachtung. Konzentrationen von 0,1 mg/ccm und solche, die nur wenig darunter oder darüber liegen, sind nach Möglichkeit nicht zu wählen, da in diesem Bereich Komplikationen auftreten, die wahrscheinlich durch Molekularkräfte hervorgerufen werden.

Skallau (Berlin).

Abgeschlossen am 3. Mai 1939.

Zentralblatt für Bakt. etc. II. Abt. Bd. 100. No. 18/23.
Ausgegeben am 3. Juli 1939.

Nachdruck verboten.

Microbic Dissociation and the Classification of Bacteria.

[From the Laboratory of Bacteriology, Cornell University, Ithaca, N. Y.]

By **Otto Rahn.**

Hadley, in his latest summary on microbic dissociation (1937), regrets that the taxonomy systems of the bacteriologists are still "firmly based on the old monomorphic conception of the nature and organization of bacteria". It cannot be denied that the regret is justified. It indicates inconsistency. Any of the systems proposed in recent years, excepting only that of Enderlein, pretends that bacteria are not variable, and yet, it can hardly be doubted that the authors of these systems are convinced of the existence of smooth and rough variants, and may recognize mucoid and even gonidial (filterable) forms. This is certainly true of the writer who recently proposed such a monomorphic system.

According to any of these systems, including the writer's, parent strain and dissociant may belong to different genera and even different families. A permanently non-sporulating variety of Bacillus anthracis which may be produced by continued cultivation on glycerol agar (Eisenberg, 1914) or at supra-optimal temperatures (Preisz, 1911) would never be classified among the Bacillaceae if the origin were not known. Those R-forms of Bacterium coli which have lost the power to produce gas from glucose (Penfold, 1911; O'Neal, 1933; Torrey and Montu, 1936) would probably be classified as Achromobacter, certainly not as Escherichia.

It will be generally admitted that this is really a serious situation. Hadley (1937, p. 182) makes the counterproposal to describe, in place of only one phase (usually the S-phase) each "microphyte" with all its culture phases (i. e. mucoid, smooth, rough, etc.) and with all cell forms characterizing each phase, completing this description with a record of the influence of environment on the behavior of each culture phase. There can be little doubt that all bacteriologists would be delighted to have such a book, giving the description of all phases of all bacteria. Unfortunately, not a single species has been described as yet so fully, unless we accept Löhnis and Smith's dissociation of Azotobacter in its entirety. The analysis of Corynebacterium diphtheriae by Mellon, Richardson and Fisher and of Bacillus anthracis by Haag give us cycles, but they seem incomplete if we can believe in the results of Löhnis and Smith, or of Cunningham. Hadley himself (p. 148) believes that this task will require "the next dozen years". The writer is less optimistic. A rapid progress in microbic dissociation can hardly be expected. Besides such individually personal reasons as inertia, conservatism, etc. which

retard the acceptance of any fundamentally new idea, there are two causes for slow developments in microbic dissociation in the future.

One of these reasons is the great number of more or less stable dissociants obtained from one species. Hadley explains these as intermediate stages, considers them as rare exceptions and claims "that each culture phase, when existing in a relatively pure state, is closely related to a certain group of characters". However, there are the four stable varieties of B. megatherium which made Knaysi believe that each property varies independently; There are the "motile rough" and the "non-motile rough" variants of Arkwright's; there are virulent rough strains; and there is, most significantly, no agreement at all in the R-forms of Bacterium coli (or any other species) obtained by different authors. They probably are intermediate forms as Hadley claims, but the authors considered them as final stages of dissociation, and would probably insist that they be included in the description of the "microphyte". There exists no criterion as yet to indicate the final stage of any phase, nor any reliable method to bring any of these final stages about.

If we assume that each property varies independently, the number of possible dissociants is very large. Let us examplify on Bacterium coli, and limit our study to the reports of O'Neal and of Torrey and Montu who worked apparently with similar strains, namely capsulated pathogenic varieties. The variable characters observed by both groups of investigators were: 1) cell length; 2) flagellation; 3) capsules; 4) colony form; 5) growth in broth; 6) gas from glucose; 7) virulence. O'Neal observed further changes in 8) gelatin liquefaction and milk peptonization; 9) starch hydrolysis.

If we eliminate quantitative considerations entirely, and consider the properties only as present or absent (or long and short, or rough and smooth), the 9 variable characters permit $2^9 = 512$ possible combinations, or if we consider 4 and 5 identical, $2^8 = 256$ combinations. Of these, one is the mucoid, one is the smooth, and one the rough phase. The other 253 are intermediates. Probably, many or even most of these are not stable, but some of them are. O'Neal describes 3 and Torrey and Montu 4 variants of which only one can be the final R-type. Under different conditions, other combinations may become stabilized.

The second great handicap for the study of dissociation is the great amount of time necessary to accumulate the large experimental material which is needed. Bacteriologists in paid positions do not receive their salary for the study of taxonomy. It is really surprising that there is, to the writer's knowledge, not a single professorship for taxonomy in the entire world, while there is not a single department of botany or zoology, even at the smallest college, without a taxonomist. The result is that most of the work on dissociation is left to Ph. D. theses, and this is not likely to bring out the highest type of association of ideas which this topic certainly needs.

Hadley's proposal is the bacteriologist's ultimate aim in taxonomy, the goal to which we are all striving. However, as long as we have no definite methods to produce each of the different phases, and as long as we have no criterion for the final stage of dissociation in each direction, so long can we base taxonomy only on the pretense of monomorphism.

After all, classification of bacteria is indispensible. No branch of applied bacteriology could continue its work for any length of time without being able to recognize, identify and name the organisms used in experiments. No bacteriologist could understand the work of the others without taxonomy. We may all admit that any monomorphic system is a temporary makeshift, we may realize that our present systems will be compared in the future with

an entomologist's system who classified the caterpillars in one family and the butterflies in another family because caterpillars resemble each other much more than the butterfly into which they eventually emerge. Regardless of the temporary nature of present-day taxonomy, it fulfills the need of the moment, and it may prove valuable even in the final analysis of dissociation.

Corrections in Nomenclature of my System of Eubacteriales of 1937.

The author is obliged to Dr. R. E. Buchanan of Iowa State College for pointing out several violations of the international rules of nomenclature which have been made in the system proposed in 1937. One of these errors is easily corrected. The two suborders of the order Eubacteriales should receive a different ending, and would be properly named Endosporineae and Asporineae.

The other infractions are family names which conflict with Article 23: "Names of families are taken from the name or former name of one of their genera . . ." According to this, the names Gramoxidaceae, Gramanoxidaceae, Endosporaceae, Protobacteriaceae and Parvobacteriaceae should be changed to conform with the rules. In the first two cases, it is without regret that these families are given the only possible names which the rule permits, namely Micrococcaceae and Streptococcaceae. For the second family, the name Streptobacteriaceae, used in the 5th edition of Bergey's Manual is really preferable. It is permissible there because the sub-genus Streptobacterium (Orla-Jensen) is used. Endosporaceae should be changed to Bacillaceae, but the original term is better because it includes the Sporosarcinae[1]) which would not be taken for granted by the term Bacillaceae without changing the definition.

It seems to the author most regrettable to give up the other two family names. In the case of Protobacteriaceae, this name could be saved if a new bacterium were found which fits the family description, and which would be named Protobacterium. Hoping that some such species will be soon found and named accordingly, the writer refrains from giving up so descriptive a family name so easily.

The same line of thought applies to the Parvobacteriaceae. Bergey's 5th edition has accepted it, making the same error as the writer because no genus Parvobacterium exists. In this case, it is not very likely that such a genus will be established in the near future. If the name must be changed, to conform with one of the genera, the author's preference is Hemophilaceae. But this term emphasizes a property which is not at all characteristic of the other two genera. It is the old argument of a justified exception versus convenient generalization, of individualism against the law, as Goethe stated in his Faust, I.

Es erben sich Gesetz und Rechte
Wie eine ew'ge Krankheit fort.

The tribe name Sarcineae falls under the same rule (Article 24). This name was very poorly chosen because it used an old term with a new

[1]) Dr. C. B. van Niel of Hopkins Marine Station, Stanford University, has sent me cultures of Sporosarcina ureae which retain the coccus shape throughout their life cycle.

meaning which is most confusing. The most comprehensive tribe name would be Zymosarcineae.

Summary.

All taxonomic systems of bacteria which are used at present are based on the assumption that the properties used in the description of bacteria are constant. All bacteriologists realize now that most of these properties, even those used in the definition of genera and families, are changeable and may be irreversibly lost. Nevertheless, we have no choice, for there can be no theoretical or applied bacteriology without nomenclature, and our knowledge of variability is too incoherent as yet to permit of a classification which considers the range of variability of each species. — One reason for the slow progress is the circumstance that not a single professorship for taxonomy of bacteria exists. This basic prerequisite for a science of bacteriology is entirely neglected.

Several family names used in a system proposed by the author have been modified according to the rules of international nomenclature.

References.

Arkwright, Bacterial Variability, System of Bacteriology. Vol. 1. 1930. — Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. V. ed. (in press). — Cunningham, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 83. 1931. S. 219. — Eisenberg, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 73. 1914. S. 81. — Haag, Arch. f. Hyg. Bd. 98. 1927. S. 271. — Hadley, Journ. Infect. Diseases. Vol. 60. 1937. p. 129. — Knaysi, Journ. of Bact. Vol. 26. 1935. p. 623. — Löhnis and Smith, Journ. Agric. Research. Vol. 23. 1923. p. 401. — Mellon, Richardson, and Fisher, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. Vol. 30. 1932. p. 90. — O'Neal, Journ. of Bact. Vol. 26. 1933. p. 521. — Penfold, Journ. of Hyg. Vol. 11. 1911. p. 30. — Preiß, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. S. 510. — Rahn, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 96. 1937. S. 273. — Torrey and Montu, Journ. of Bact. Vol. 32. 1936. p. 329.

Über die Wirkung von Agar sowie Eisen, Molybdän, Mangan und anderen Spurenelementen in stickstofffreier Nährlösung auf Azotobakter.

[Aus der mikrobiologisch-chemischen Abteilung der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem.]

Von **H. Bortels.**

I.

In den Arbeiten des Verf.s (siehe 1936) über die Bedeutung gewisser Mineralstoffe für die biologische Stickstoffbindung durch Azotobakter ist die Frage nach der Entbehrlichkeit oder Unentbehrlichkeit des Eisens zunächst absichtlich nicht berührt worden. Denn erstens wurde die Lebensnotwendigkeit dieses Elements für stickstoffbindende wie für nicht stickstoffbindende Bakterien vorausgesetzt, und zweitens konnte selbst in den stets verwendeten eisenhaltigen synthetischen Nährlösungen ohne Zusatz von Erdextrakt keine nennenswerte Stickstoffbindung festgestellt werden. Darum mußte zuerst nach denjenigen Bestandteilen wirksamer Erdextrakte und Bodenhumuspräparate gefahndet werden, die außer Eisen und den anderen in der Grundnährlösung vorhandenen Elementen für die Entwicklung der Bakterien in stickstofffreier synthetischer Nährlösung unentbehrlich oder begünstigend wirksam sind. Hierher gehört das offenbar an der Stickstoffbindung katalysatorisch beteiligte Molybdän, das bis zu einem gewissen Grade durch Vanadium oder Wolfram[1]) vertreten werden kann. Außerdem wird das Wachstum der Bakterien, wie Birch-Hirschfeld (1932) zeigen konnte, durch die organischen Humuskolloide gefördert.

Bei früheren Versuchen anderer Autoren, die Wirkung des Erdextraktes auf einige darin enthaltene chemische Elemente zurückzuführen, hat dagegen das Eisen im Vordergrund der Betrachtung gestanden.

Schon Kaserer (1910) und Remy und Rösing (1911) stellten fest, daß die Entwicklung von Azotobakter durch Zusatz von Eisensalzen zur Nährlösung gefördert wird, und glaubten darum, die Wirkung des Humuskomplexes u. a. auf seinen Eisengehalt zurückführen zu müssen. Ebenso haben später Burk, Lineweaver und Horner (1932) eine wachstumsfördernde Wirkung des Eisens als Humusbestandteil zeigen können. Jedoch nach den Feststellungen des Verf.s und Ter Meulens (1931) über die besonders engen Beziehungen des Molybdäns zur biologischen Stickstoffbindung und nach den Versuchsergebnissen Birch-Hirschfelds und Rippels (1936) über die wachstumsfördernde Wirkung kolloidaler Substanzen schien das Eisen gegenüber diesen anderen Humusbestandteilen zunächst weniger Beachtung zu finden. Es spielt aber im Stoffwechsel von Azotobakter zweifellos eine hervorragende Rolle. Sowohl Rippel (1936) als auch Krzemieniewski und Kovats (1936) haben neuerdings gezeigt, daß sich A. chroococcum in stickstofffreier Nährlösung bei Gegenwart von Molybdän kaum zu entwickeln vermag, wenn ihm nicht gleichzeitig Eisen in außergewöhnlich großen Mengen geboten wird. Nach Kovats (1938) ist der Gehalt des Bodenhumus an Eisen und Molybdän bestimmend für dessen Wirkung auf die Stickstoffbindung. Die polnischen Autoren vermuteten

[1]) Dieses Element ist in den folgenden Versuchen ebenfalls berücksichtigt, aber nicht erwähnt worden, weil es auf Grund anderer unveröffentlichter Versuche die Stickstoffbindung von Azotobakter nur bei besonders günstigen Wetterverhältnissen fördert, die während der hier in Frage kommenden Versuchszeiten nicht vorlagen.

deshalb, daß nicht nur Molybdän, sondern auch Eisen katalysatorisch an der Stickstoffbindung beteiligt sei. Damit würde allerdings die Hypothese einer Ähnlichkeit zwischen den Katalysatorsystemen der biologischen und der technischen Stickstoffbindung eine wesentliche Stützung erfahren. Sie bleibt jedoch vorläufig unbewiesen und wurde von Rippel (1937) abgelehnt mit der Begründung, daß Eisen von einigen anderen, nicht stickstoffbindenden Mikroorganismen in ebenso auffallend großen Mengen benötigt wird.

In einer Hinsicht aber sind sich alle Autoren einig, nämlich darin, daß die Eisenbedürftigkeit der Azotobakterarten besonders groß ist. Davon konnte ich mich, aufmerksam geworden durch das Verhalten von A. vinelandii, in neueren Versuchen ebenfalls überzeugen. Durch diese Azotobakterart werden bei guter Entwicklung die stickstofffreien synthetischen Nährlösungen bekanntlich grün fluoreszierend, zuweilen aber auch braun bis rot gefärbt. Bisher war aus der Literatur nicht zu ersehen, von welchen Bedingungen das Auftreten der einen oder anderen Farbe abhängig ist. Eigene Versuche konnten hierüber ebenfalls so lange keine befriedigende Auskunft geben, wie das Eisen nicht genau dosiert, sondern immer nur in „Spuren" verabreicht wurde. Erst bei Anwendung verschiedener, genau festgelegter Konzentrationen auch dieses Elementes zeigte es sich, daß die Bildung des einen oder des anderen gefärbten Stoffes in der Nährlösung in erster Linie bestimmt wird von den gegebenen Konzentrationen des Eisens und in zweiter Linie auch von denen des Molybdäns bzw. Vanadiums. Die allgemeine Bedeutung des Eisens für die Farbstoffbildung durch Mikroorganismen ergibt sich schon daraus, daß dieser Vorgang gewöhnlich mit lebhafter Oxydation verknüpft ist. Eisen fördert diese Oxydation bzw. ist hierfür unentbehrlich und bildet außerdem mit vielen organischen Säuren, phenolartigen Körpern und dergleichen gefärbte einfache und komplexe Verbindungen. Das hat schon Lasseur (1913) für eine Reihe sporenbildender Bazillen und später z. B. Verf. (1927) für Bact. prodigiosum feststellen können.

Sämtliche Versuche, über die im folgenden berichtet wird, wurden bei 29—30° C ausgeführt mit einer Grundnährlösung, die zu je 20 ccm in Erlenmeyer-Kolben aus Jenaer Geräteglas Nr. 20 von 100 ccm Fassungsvermögen mit einer jungen Möhrenagar-Schrägkultur beimpft wurde und folgende Zusammensetzung hatte: H_2O 100, Glukose 2,0, $CaCO_3$ 0,1, K_2HPO_4 0,1, $MgSO_4 \cdot 7\, H_2O$ 0,05. Die Glukose in den Kulturlösungen wurde nach Fehling bestimmt, der Stickstoff nach Kjeldahl, wobei das Selenreaktionsgemisch nach Wieninger Verwendung fand. Destilliert wurde unmittelbar aus den Aufschlußkolben in die Vorlage, die 2 ccm einer 5proz. Borsäurelösung und Methylrot als Indikator enthielt. Wenn nicht ausdrücklich etwas anderes erwähnt ist, wurde immer eine vollständige Kultur aufgeschlossen und der Aufschluß ungeteilt destilliert.

Da die Stickstoffbindung durch Vanadium nicht so sehr begünstigt wird wie durch Molybdän, wurden zunächst nur verschiedene Mengenverhältnisse von Eisen und Molybdän in ihrer Wirkung auf Azotobakter miteinander verglichen. In dem der Tab. 1 zugrunde liegenden Versuch ist außerdem der Einfluß von Agar in der von Rippel angegebenen Konzentration von 0,1% auf die Farbstoffbildung von A. vinelandii geprüft worden.

Obwohl in Übereinstimmung mit den Versuchsergebnissen Rippels an A. chroococcum auch die Entwicklung von A. vinelandii durch Agar sehr stark beschleunigt worden ist, waren die Farben mit Ausnahme der grünen Fluoreszens mindestens ebenso rein und kräftig in den agarfreien Lösungen. Deshalb wurden bei den weiteren Versuchen über Farbstoffbildung nur Nährlösungen ohne Agarzusatz verwandt. Darüber hinaus hat der Versuch der Tab. 1 eindeutig ergeben, daß bei niedrigen Eisenkonzentrationen die grün fluoreszierende Färbung auftritt, die mit

Tabelle 1.
13.—17. Januar 1937.

Zu 100 ccm gegeben		Farbe der Nährlösung	
mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	mg $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	ohne Agar	mit Agar
0,1	0,01	schwach gelb + grüne Fluoreszenz	Fluoresz. etwas stärker als ohne Agar
0,1	0,1	schwach gelb + grüne Fluoreszenz	Fluoresz. etwas stärker als ohne Agar
0,1	1,0	schwach gelb + grüne Fluoreszenz	Fluoresz. etwas stärker als ohne Agar
1,0	0,01	bräunl. gelb + schw. grüne Fluoreszenz	schwach bräunl. rosa
1,0	0,1	bräunl. gelb + schw. grüne Fluoreszenz	farblos
1,0	1,0	bräunl. gelb + schw. grüne Fluoreszenz	etwas schwächer als ohne Agar
10,0	0,01	bräunlich violettrot	schwach rosa
10,0	0,1	rötlich braun	schwach bräunlich rosa
10,0	1,0	braun	etwas schwächer als ohne Agar

steigendem Molybdängehalt der Nährlösung in einen mehr gelblichen Farbton übergeht. Mit steigender Eisenkonzentration geht das fluoreszierende Grün in braune Farbtöne über und schließlich in bräunlich violettrote. Diese fortschreitende Farbreihe von grün über braun zu rot wird für jede Eisenkonzentration durch Erhöhung der Molybdängabe wieder etwas rückläufig.

Wird an Stelle des Molybdäns Vanadium in verschiedenen Mengenverhältnissen zum Eisen eingesetzt, so ergeben sich die in Tab. 2 eingetragenen Farbtöne.

Entsprechend der schwächeren Wirkung des Vanadiums auf Wachstum und Stickstoffbindung der Bakterien ist auch die Farbstoffbildung weniger intensiv. Im Zusammenwirken mit Eisen sind jedoch ähnliche Abstufungen in der Färbung entstanden wie in der Versuchsreihe mit Molybdän. Also geht auch aus Tab. 2 hervor, daß bei überwiegendem Eisengehalt die braunen

Tabelle 2.
14.—18. Mai 1938.

Zu 100 ccm gegeben		A. vinelandii		
mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	mg $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$(Mo) bzw. $NaVO_3 \cdot 4H_2O$ (V)	mg N in 100 ccm		Farbe der Nährlösung
0,0	0,0	1,5	1,5	farblos
10,0	0,0	5,0	5,0	sehr schwach rötlich
0,0	1,0 Mo	5,0	6,0	stark gelb + grüne Fluoresz.
0,1	1,0 Mo	10,0	11,0	stark gelb + grüne Fluoresz.
10,0	1,0 Mo	25,0	25,5	stark rötlich braun
10,0	0,01 Mo	23,0	23,5	stark bräunlich violettrot
0,0	0,1 V	0,5	0,5	sehr schwach grüne Fluoresz.
0,1	0,1 V	2,5	2,5	schwach grüne Fluoreszenz
10,0	0,1 V	10,5	10,5	schwach bräunlich
10,0	0,001 V	9,0	10,0	schwach bräunlich rot

bis rötlichen Farbtöne entstehen, bei überwiegendem Molybdän- oder Vanadiumgehalt dagegen die gelben und grün fluoreszierenden.

Während das fluoreszierende Grün in den Lösungen mit Vanadium immer verhältnismäßig rein gebildet wurde, war es in den molybdänhaltigen Lösungen mit einem mehr oder weniger kräftigen Gelb gemischt, das bei etwas größeren Eisenkonzentrationen die grüne Färbung fast vollständig verdrängte. Wenn aber bei niedriger Eisenkonzentration zugleich nur sehr wenig Molybdän gegeben wurde, dann entstand auch hier fast ausschließlich der grün fluoreszierende Stoff, und zwar stärker als in den vanadiumhaltigen Lösungen (Tab. 3).

Tabelle 3.
20.—24. Juni 1938.

Zu 100 ccm gegeben		A. vinelandii			
mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ (Mo) bzw. $NaVO_3 \cdot 4H_2O$ (V)	mg N in 100 ccm		Farbe der Nährlösung	Nr. der Farbe nach Séguy (1936)
0,05	0,005 Mo	10. 1.	10. 5.	sehr schwach gelb + stark grüne Fluoreszenz	332
0,5	0,005 Mo	13,0	13,7	schwach gelb	265
5,0	0,005 Mo	14,7	15,3	bräunlich violettrot	110
0,05	5,0 Mo	9,4	10,6	hellgelb	213
0,5	5,0 Mo	23,1	23,9	dunkelgelb	211
5,0	5,0 Mo	—	27,9	braun	186
0,05	0,0005 V	3,8	5,2	sehr schwach gelb + grüne Fluoreszenz	332
0,5	0,0005 V	8,5	9,1	schwach braun	340
5,0	0,0005 V	9,4	10,4	schwach bräunl. violettrot	179
0,05	0,5 V	1,3	1,7	sehr schw. grüne Fluoresz.	270
0,5	0,5 V	3,4	3,9	schwach grüne Fluoreszenz	284
5,0	0,5 V	6,3	7,7	schmutzig grüne Fluoresz.	219

Es kann also allein durch Änderung der Konzentration des Eisens und Molybdäns erzielt werden, daß sich die Nährlösungen grün fluoreszierend, gelb, braun oder bräunlich violettrot färben. Dabei ist es gleichgültig, ob Glukose oder Mannit als Kohlenstoffquelle verabreicht wird.

Tabelle 4.
22.—26. Januar 1937.

Zu 100 ccm gegeben		Farbe der Nährlösung von A. agilis
mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$	
0,1	1,0	hellgelb + schwach grüne Fluoreszenz
10,0	1,0	bräunlichgelb
10,0	0,01	rötlichbraun

Ein uns von Kluyver und van Reenen[1]) freundlicherweise überlassener Stamm A. agilis (Tab. 4) verhielt sich hinsichtlich der Färbung der Nährlösung durchaus ähnlich dem beschriebenen Stamm von

[1]) Ihnen sei hierfür auch an dieser Stelle bestens gedankt.

A. vinelandii, dessen Farbstoffbildung allerdings wesentlich kräftiger ist. Dagegen hat der ebenfalls von Kluyver und van Reenen (1933) beschriebene und von diesen erhaltene Stamm A. agilis atypica[1]) in mehreren Versuchen niemals Farbstoff gebildet. Die Braunfärbung von A. chroococcum scheint von den hier erwähnten ursächlichen Faktoren nicht abhängig zu sein.

Die chemischen Eigenschaften des von A. vinelandii gebildeten grün fluoreszierenden Stoffes sind, soweit sie untersucht wurden, ähnlich denjenigen des Bacteriofluoresceins anderer Bakterien [Lehmann und Neumann (1927)]. Beide sind unlöslich in Äther, Chloroform, Toluol und Kohlenstofftetrachlorid und werden offenbar von Wasserstoffperoxyd nicht oxydiert. Beim Ansäuern verschwindet die grüne Fluoreszens und tritt beim erneuten Alkalisieren in unverminderter Stärke wieder auf, sofern nicht zu stark angesäuert wurde. Mit einer Spur Ferrosulfat schlägt die Farbe in olivbraun um.

Der gelb gefärbte Stoff ist ebenfalls nicht ätherlöslich. Nach dem Ansäuern verschwindet diese Farbe nicht vollständig, sondern wird nur schwächer. Mit Ferrosulfat tritt ein Farbumschlag ein von gelb nach braun.

Die braunen Lösungen enthalten neben dem eben erwähnten gelb gefärbten Stoff noch einen, der rötlich braun gefärbt und nach Ansäuern ätherlöslich ist. Aus dem Äther mit alkalischem Wasser wieder ausgeschüttelt, färbt er sich mit einer Spur Ferrosulfat wieder rötlichbraun. Wird das Eisen unmittelbar der braunen Nährlösung zugesetzt, dann färbt sich diese zuweilen noch etwas dunkler braun.

Dieselbe rotbraune Substanz ist auch in den bräunlich-violettrot gefärbten Nährlösungen mit verhältnismäßig viel Eisen und wenig Molybdän enthalten. Neben dieser wurde noch eine weitere nachgewiesen, die bei saurer Reaktion ebenfalls ätherlöslich ist, jedoch mit alkalischem Wasser ausgeschüttelt, hierin mit Eisen eine Violettfärbung hervorruft. Die gefärbte Nährlösung selbst wird bei Zugabe einer Spur Ferrosulfat noch deutlicher violett.

Bemerkenswert ist nun, daß der grün fluoreszierende Körper der wenig Eisen und wenig Molybdän enthaltenden Nährlösung bei alkalischer Reaktion nicht lichtbeständig ist. Schon etwa eine halbe Stunde Sonnenlicht genügt, um das fluoreszierende Grün in ein schwaches Braun umzuwandeln. Nach Zusatz einer Spur Ferrosulfat ist die Lösung dann so gefärbt, wie sie von vornherein gefärbt gewesen wäre, wenn sie mehr Eisen enthalten hätte, nämlich bräunlich-violettrot. Nunmehr enthält sie auch die ätherlöslichen Stoffe, die bei alkalischer Reaktion die rötlich-braune und die violette Färbung ergeben. Nach längerer intensiver Belichtung ist der mit Eisen sich violett färbende Stoff nicht mehr nachweisbar, sondern nur noch der sich rötlich-braun färbende.

Es scheint demnach, als wäre in der grün fluoreszierenden Lösung derselbe Grundstoff gebildet worden wie in der bräunlich-violettroten Lösung, lediglich mit dem Unterschied, daß dieser sich in der ersteren in einer vielleicht weniger

---

[1]) Es muß jedoch erwähnt werden, daß auch der Stamm A. agilis unter den gleichen Versuchsbedingungen später keinen Farbstoff gebildet hat, und daß im Hinblick auf die jeweiligen Wetterlagen angenommen werden muß, daß dieser Stamm nur bei günstigem Hochdruckwetter Farbstoff zu bilden vermag. Kluyver und van Reenen selbst erwähnen, daß einer der von ihnen untersuchten Stämme anfangs Farbstoff bildete, später jedoch nicht mehr.

stark oxydierten Form befindet als in der letzteren, wesentlich mehr Eisen enthaltenden Lösung. Die oxydationskatalytische Wirkung des Eisens kann dann nachträglich durch entsprechend lange und starke Belichtung ersetzt werden.

Bei Züchtung von A. vinelàndii unmittelbar im diffusen Tageslicht wird der grün fluoreszierende Farbstoff in dem Maße, wie er entsteht, je nach der Stärke des Lichtes sofort oder allmählich umgewandelt. Eine Rotfärbung kann natürlich in einer solchen belichteten Nährlösung erst dann eintreten, wenn ihr am Ende der Kulturzeit etwas Ferrosulfat zugesetzt wird, weil sie selbst zu wenig Eisen enthält. In den anderen Lösungen bildet das Bakterium im Licht die gleichen Farbstoffe in gleicher Stärke wie im Dunkeln.

II.

Was die Stickstoffbindung von A. vinelandii betrifft, so ist vor allem festzustellen, daß die größten Stickstoffgewinne bei den bereits erwähnten wie bei den folgenden Versuchen immer in denjenigen Lösungen erzielt wurden, die gleichzeitig verhältnismäßig große Eisen- und große Molybdän- bzw. Vanadiumkonzentrationen enthielten. Das gilt für alle untersuchten Azotobakterarten, nämlich A. chroococcum, A. vinelandii, A. agilis und A. agilis atypica (Tab. 5).

Tabelle 5.
14.—18. Juli 1938.

Azotobakter-Arten	mg N in 100 ccm Nährlösung mit					
	5,0 mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$ 0,005 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$		5,0 mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 5,0 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$		0,05 mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$, 5,0 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$	
A. chroococcum	4,6	4,9	15,0	20,0	4,5	6,3
A. vinelandii	15,7	15,8	25,6	28,4	9,8	9,9
A. agilis	8,1	8,5	11,1	11,3	4,6	5,2
A. agilis atypica	10,2	11,1	13,0	13,2	6,6	7,0

Allerdings unterscheidet sich A. chroococcum von A. vinelandii insofern, als höhere Vanadiumkonzentrationen auf letztere Art einen hemmenden Einfluß ausüben, der durch besonders große Eisenkonzentrationen in einen fördernden Einfluß umgewandelt wird. Derartiges wurde bei A. chroococcum seltener beobachtet. Es konnte aber schon früher [Bortels (1936)] festgestellt werden, daß der Optimalbereich des Vanadiums bei gleichem, nicht besonders großem Eisengehalt der Nährlösung für A. vinelandii wesentlich enger begrenzt ist als für A. chroococcum. Im übrigen verhalten sich jedoch die beiden Arten gegenüber den verschiedenen Konzentrationen von Eisen und Molybdän bzw. Vanadium durchaus ähnlich. In Tab. 6 liegen wieder die höchsten Stickstoffwerte dort, wo die Lösungen außer den optimalen Molybdän- oder Vanadiumkonzentrationen gleichzeitig verhältnismäßig große Eisenmengen enthalten. Bei den in diesem Versuch verabreichten Eisengaben ist mit der Konzentration von 1 mg Vanadat in 100 ccm Lösung auch für A. chroococcum das Optimum schon deutlich überschritten.

Tabelle 6.
30. August bis 6. September 1937.

Zu 100 ccm gegeben		mg N in 100 ccm A. chroococcum	
mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ (Mo), bzw. $NaVO_3 \cdot 4\,H_2O$ (V)		
0,0	0,0	0,7	0,8
10,0	0,0	0,7	0,8
0,0	0,001 Mo	2,8	3,2
0,0	0,1 „	4,2	4,8
0,0	10,0 „	5,2	5,2
0,001	0,001 „	2,7	3,8
0,001	0,1 „	4,6	5,2
0,001	10,0 „	4,8	5,2
0,1	0,001 „	2,9	4,5
0,1	0,1 „	9,1	9,3
0,1	10,0 „	9,0	13,3
10,0	0,001 „	3,2	4,2
10,0	0,1 „	21,7	25,3
10,0	10,0 „	23,9	24,4
0,0	0,0001 V	1,1	1,3
0,0	0,01 V	2,8	2,8
0,0	1,0 „	1,1	1,3
0,001	0,0001 „	1,0	1,1
0,001	0,01 „	2,8	2,9
0,001	1,0 „	1,3	1,8
0,1	0,0001 „	1,1	1,3
0,1	0,01 „	6,7	6,9
0,1	1,0 „	3,4	3,4
10,0	0,0001 „	0,8	0,8
10,0	0,01 „	8,8	9,2
10,0	1,0 „	3,8	4,8

Ein weiterer Versuch mit A. vinelandii, aber etwas anderen Konzentrationen des Eisens, Molybdäns und Vanadiums hatte ein Ergebnis, das den früheren Feststellungen entspricht und die Empfindlichkeit von A. vinelandii gegenüber höheren Vanadiumkonzentrationen bei nicht übermäßig hohen Eisengaben klar erkennen läßt (Tab. 7).

Tabelle 7.
9.—13. Juni 1938.

Zu 100 ccm gegeben		A. vinelandii		
mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$	mg $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ (Mo) bzw. $NaVO_3 \cdot 4\,H_2O$ (V)	mg N in 100 ccm		Farbe der Nährlösung
0,05	5,0 Mo	11,2	11,3	gelb + stark grüne Fluoreszenz
5,0	5,0 „	26,7	26,9	gelblich-braun
5,0	0,005 „	15,3	16,2	bräunlich-violettrot
0,05	0,5 V	1,8	1,5	sehr schwach grüne Fluoreszenz
5,0	0,5 „	5,7	5,9	sehr schwach grüne Fluoreszenz
5,0	0,0005 „	7,3	8,5	schmutzig-bräunlich

Hier liegt schon die Konzentration 0,5 V jenseits des Optimums, während Molybdän bei derselben Eisenmenge in der stärksten Konzentration auch die stärkste Stickstoffbindung veranlaßt hat.

Die besonders große Eisenbedürftigkeit von A. vinelandii geht aus den Zahlen der Tab. 8 noch deutlicher hervor. Sie zeigen wieder, daß die oft beobachtete hemmende Wirkung größerer Vanadiumgaben bei niedriger Eisenkonzentration durch eine Erhöhung derselben in einen fördernden Einfluß umgewandelt wird. Ob diese ausgleichende Wirkung größerer Eisengaben biologisch oder rein chemisch zu verstehen ist, wurde nicht weiter untersucht. Es ist natürlich naheliegend, an die Bildung schwer löslichen Eisenvanadats zu denken, wodurch einfach die überoptimale Konzentration des Vanadiums in die Nähe des Optimums herabgedrückt würde.

Tabelle 8.
15.—29. August 1938.

Zu 100 ccm gegeben		A. vinelandii		
mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	mg $NaVO_3 \cdot 4\,H_2O$	mg N in 100 ccm		Farbe der Nährlösung
0,0	0,0	1,8	1,8	sehr schwach gelb
0,05	0,0	2,1	2,5	sehr schwach gelb
0,5	0,0	1,7	2,0	sehr schwach gelb
5,0	0,0	2,5	3,8	sehr schwach braun
50,0	0,0	5,5	5,9	sehr schwach bräunlich-rot
0,0	0,0005	2,4	2,8	schwach grüne Fluoreszenz
0,0	0,005	4,1	2,5	schwach grüne Fluoreszenz
0,0	0,05	1,8	2,2	sehr schwach grüne Fluoreszenz
0,0	0,5	1,1	1,1	farblos
0,05	0,0005	4,6	3,9	grüne Fluoreszenz
0,05	0,005	6,0	5,5	grüne Fluoreszenz
0,05	0,05	2,0	1,8	sehr schwach grüne Fluoreszenz
0,05	0,5	1,1	1,3	farblos
0,5	0,0005	6,9	6,0	schwach gelb
0,5	0,005	6,3	6,2	schwach gelb + grüne Fluoresz.
0,5	0,05	3,6	3,9	schwach grüne Fluoreszenz
0,5	0,5	2,2	2,2	fast farblos
5,0	0,0005	8,7	7,4	sehr schwach braun
5,0	0,005	9,2	13,0	schwach bräunlich-rot
5,0	0,05	9,8	10,4	schwach bräunlich-gelb
5,0	0,5	3,9	4,1	schwach grüne Fluoreszenz
50,0	0,0005	8,0	8,0	sehr schwach bräunlich-rot
50,0	0,005	11,6	15,1	sehr schwach bräunlich-rot
50,0	0,05	12,9	13,2	schwach braun
50,0	0,5	11,2	10,1	schwach gelb

Aus Tab. 8 ist ferner ersichtlich, daß schon in Lösungen, die kein Vanadium oder Molybdän enthalten, allein durch Steigerung der Eisenkonzentration eine unverkennbare Förderung der Stickstoffbindung hervorgerufen wird. Hierin unterscheidet sich A. vinelandii ebenfalls von A. chroococcum, der bei Abwesenheit von Molybdän oder Vanadium durch Erhöhung der Eisenkonzentration nicht (Tab. 6) oder jedenfalls nicht in dem Umfange (Tab. 9) zu stärkerer Stickstoffbindung angeregt werden kann.

Tabelle 9.
15.—19. September 1938.

Zu 100 ccm gegeben		mg N in 100 ccm			
mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	10 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ (Mo) bzw. 0,5 mg $NaVO_3 \cdot 4\,H_2O$ (V)	A. chroococcum		A. vinelandii	
0,0	—	1,3	1,1	2,0	1,4
0,0	Mo	3,6	3,6	4,8	5,3
0,0	V	2,0	2,5	1,5	1,7
10,0	—	1,5	1,7	2,9	1,7
10,0	Mo	25,8	23,9	21,0	22,7
10,0	V	2,7	2,8	3,4	2,8
50,0	—	2,1	2,1	9,1	11,8
50,0	Mo	29,4	26,2	31,2	30,4
50,0	V	4,5	3,5	11,2	11,6

In Tab. 9 ist die fördernde Wirkung besonders großer Eisengaben auf die Stickstoffbindung durch A. vinelandii sogar stärker als die Förderung durch Vanadium, während Molybdän in jedem Falle sowohl bei niedriger als auch bei hoher Eisenkonzentration für A. vinelandii wie für A. chroococcum ausschlaggebend ist. Selbst bei geringfügigem Eisengehalt der Nährlösung hat Molybdän die Azotobakterentwicklung niemals gehemmt.

Eine Fortführung der geometrischen Konzentrationsreihe des Eisens um eine weitere Stufe bis 250 mg Ferrosulfat in 100 ccm führt zur vollständigen oder fast vollständigen Unterbindung der Azotobakterentwicklung, wie aus Tab. 10 ersichtlich ist.

Tabelle 10.
10.—14. September 1938.

Zu 100 ccm gegeben		mg N in 100 ccm			
mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	10 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ (Mo) bzw. 100 mg Agar	A. chroococcum		A. vinelandii	
0,0	—	1,1	1,1	—	—
10,0	—	1,1	1,4	3,5	3,4
10,0	Agar	1,8	1,8	18,8	18,6
10,0	Mo	25,9	26,0	28,7	30,0
10,0	Agar + Mo	33,0	32,1	33,9	33,7
50,0	—	1,1	1,1	7,6	6,2
50,0	Agar	1,3	1,4	17,5	16,8
50,0	Mo	29,5	29,0	29,4	30,0
50,0	Agar + Mo	33,0	31,4	35,1	34,7
250,0	—	1,0	1,1	1,5	2,0
250,0	Agar	1,5	1,4	2,7	2,9
250,0	Mo	1,7	1,8	1,5	1,8
250,0	Agar + Mo	2,7	2,1	4,2	4,5

Im übrigen geht auch hieraus wieder das unterschiedliche Verhalten der beiden Azotobakterarten gegenüber höheren Eisenkonzentrationen hervor, das vielleicht darauf zurückzuführen ist, daß der Atmungsstoffwechsel von A. vinelandii, der vornehmlich im Wasser lebt, einer stärkeren

Anhang.

10.—14. September 1938.

Nährlösung	mg N in 100 ccm			
	A. chroococcum		A. vinelandii	
Nach Kaserer	13,7	15,3	22,0	24,4
Nach Kaserer + Mo	25,8	25,6	27,4	28,8

katalytischen Unterstützung bedarf als derjenige des hauptsächlich im Ackerboden lebenden A. chroococcum. Denn gegenüber 0,1% Agar verhalten sich beide Arten in ähnlicher Weise verschieden wie gegenüber dem oxydationskatalytisch wirksamen Eisen.

Tabelle 11.

3.—7. November 1938.

Zu 100 ccm gegeben	mg N in 100 ccm				Farbe der Nährlösung von A. vinelandii
30 mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (Fe) bzw. 10 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ (Mo) bzw. 100 mg Agar	A. chroococcum		A. vinelandii		
—	1,4	1,4	1,7	4,6	sehr schwach grüne Fluoreszenz
Fe	1,0	1,1	5,7	5,7	sehr schw. bräunl.-rot
Agar	1,5	1,7	6,4	7,0	grüne Fluoreszenz
Mo	3,5	3,9	7,1	7,8	gelb
Agar + Fe	1,7	4,3	15,1	15,1	fast farblos
Agar + Mo	7,0	7,6	12,3	12,9	dunkelgelb
Fe + Mo	21,7	24,5	22,4	29,7	braun
Fe + Agar + Mo	31,2	31,5	32,6	33,2	hell bräunlich-rot

Der Unterschied kommt in Tab. 11 besonders darin zum Ausdruck, daß A. chroococcum auf einen Zusatz von Agar und Molybdän zur Nährlösung stärker reagiert hat als auf einen Zusatz von Agar und Eisen, A. vinelandii dagegen umgekehrt auf Agar und Eisen stärker als auf Agar und Molybdän. Eisen und Agar übten auf A. vinelandii schon allein, auf A. chroococcum nur gemeinsam mit Molybdän einen deutlich fördernden Einfluß aus. Erst unter gleichzeitiger Einwirkung dieser drei Faktoren Molybdän, Eisen und Agar wurden beide Arten zu stärkster Stickstoffbindung angeregt, deren Ergebnisse dann nicht mehr sehr wesentlich voneinander abweichen. Die entwicklungsbeschleunigende Wirkung von Agar auf verschiedene Mikroorganismen in Nährlösungen soll nach Rippel (1936) u. a. darauf beruhen, daß die Versorgung der Zellen mit Sauerstoff und anderen Gasen durch Oberflächenwirkung dieses Kolloids gefördert wird. Dafür sprechen auch die vorliegenden Versuchsergebnisse. In der Ähnlichkeit der Agar- und Molybdänwirkung auf die Farbstoffbildung von A. vinelandii kann eine weitere Stütze erblickt werden für die Annahme, daß Agar auch die Aufnahme des gasförmigen Stickstoffs begünstigt. Bei A. chroococcum dagegen versieht der Agar mehr die Rolle des die Atmung fördernden Eisens. Wenn Rippel aus seinen Versuchen folgert, daß Agar ohne Molybdän überhaupt wirkungslos sei und mit Molybdän nur die

Entwicklung der Bakterien beschleunige, die Stickstoffbindung aber im Endergebnis nicht fördere, so werden diese Feststellungen durch die Zahlen der Tab. 10 und 11 für A. chroococcum kaum und für A. vinelandii keinesfalls bestätigt. Denn es muß angenommen werden, daß nach 4 Tagen bei 29—30° C der Zucker von beiden Arten nahezu verbraucht und die Stickstoffbindung beendet ist. In dem schon mehrfach erwähnten unterschiedlichen Verhalten beider Azotobakterarten scheint auch eine Erklärung dafür zu liegen, daß Burk und Mitarbeiter (1932) früher vor allem Eisen für einen wesentlichen Bestandteil wirksamer Erdhumuspräparate hielten, während ich selbst zunächst auf die Bedeutung des Molybdäns aufmerksam wurde. Die amerikanischen Autoren haben fast ausschließlich mit A. vinelandii, ich selbst aber anfangs ebenso wie auch Rippel (1936) mit A. chroococcum gearbeitet.

III.

Die auftauchende Vermutung, daß A. vinelandii durch Verunreinigung des Ferrosulfats und des Agars mit Spuren von Molybdän oder Vanadium eine Förderung erfahren haben könnten, ist schon deshalb wenig wahrscheinlich, weil das verwendete Ferrosulfat wie auch die anderen in der Nährlösung enthaltenen Salze analysenrein waren und Rippel (1936) schon gezeigt hat, daß die Asche von Agar unwirksam ist. In diesem Zusammenhang ist nochmals auf die Arbeit von Kaserer (1910) zu verweisen, der sogar mit A. chroococcum in eisenreichen und anscheinend molybdän- und vanadiumfreien Nährlösungen, die außerdem Silicium, Mangan und Aluminium enthielten, einen Stickstoffgewinn von 12,25 mg je 1 g verbrauchter Glukose erzielen konnte. Die Nachprüfung dieses bemerkenswerten Ergebnisses, im Anhang der Tab. 10 aufgeführt, brachte im wesentlichen eine Bestätigung. Jedoch hat sich Kaserer über die Reinheit der von ihm verwandten Salze, besonders des Eisenchlorids und des Kaliumsilikats nicht geäußert, und es bestand deshalb immer noch die Möglichkeit, daß mit diesen Salzen Spuren von Molybdän oder Vanadium in die Nährlösung gelangt waren.

Tabelle 12.
17.—21. September 1938.

Nährlösung	mg N in 100 ccm			
	A. chroococcum		A. vinelandii	
Nach Kaserer	11,8	11,9	14,3	18,3
Vereinfacht	10,6	11,1	13,9	12,3
Vereinfacht ohne Al . . .	12,2	11,8	21,7	20,2
Vereinfacht ohne Mn . . .	8,0	8,8	8,3	8,7
Vereinfacht ohne Si . . .	2,0	2,0	2,1	2,0
Vereinfacht mit $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ statt $FeCl_3 \cdot 6 H_2O$ . . .	5,9	5,5	5,9	6,9

Deshalb wurde in einem weiteren Versuch (Tab. 12) zunächst die Wirkung der nach Kaserers besonderer Fällungs- und Lösungsvorschrift bereiteten Nährlösung verglichen mit einer, die ohne Beachtung dieser Vorschrift aus den einzelnen Salzen zusammengestellt worden war. Aus dieser vereinfachten Lösung war außerdem zum Teil das reine Aluminiumsulfat,

das reine Mangansulfat, das rohe Ferrichlorid oder das rohe Kaliumsilikat fortgelassen und im Falle des Eisens und des Silikats durch analysenreines Ferrosulfat bzw. analysenreines Kaliumsulfat ersetzt worden.

Nährlösung nach Kaserer.

2,0 g $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\ H_2O$ und 0,5 g $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ gelöst und mit Na_2HPO_4 gefällt. Niederschlag abgesaugt, einmal mit H_2O gewaschen, in 500 ccm H_2O aufgeschwemmt und mit 3,0 g $K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$ gelöst bzw. möglichst fein verteilt. Diese Flüssigkeit ½ Std. bei 2 Atm. erhitzt und auf 1000 ccm aufgefüllt. Hiervon 100 ccm zu folgender Lösung: H_2O 100, Glukose 4,0 (statt wie nach Kaserer 2,0), $CaSO_4 \cdot 2\ H_2O$ 0,2, $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ 0,02, $MnSO_4 \cdot 7\ H_2O$ 0,02.

Vereinfachte Nährlösung.

		Dazu teilweise:		
H_2O	100	$Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\ H_2O$	0,1	oder
Glukose	2,0	$MnSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,01	„
Na_2HPO_4	0,1	$K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$	0,15	„
$CaSO_4 \cdot 2\ H_2O$	0,1	K_2SO_4	0,1	„
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,01	$FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$	0,03	„
		$FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,03	

Diese Lösung wurde mit H_2SO_4 angesäuert und dann mit $CaCO_3$ im Überschuß versetzt.

Am Ergebnis dieses Versuchs ist auffallend, daß die beiden rohen Verbindungen Ferrichlorid und Kaliumsilikat am wenigsten entbehrlich bzw. durch die genannten reinen Salze vertretbar sind. Aluminiumsulfat hat sich dagegen als überflüssig, ja sogar als schädlich erwiesen.

Um nun festzustellen, ob die Stickstoffbindung in Kaserers Nährlösung durch Verunreinigung des rohen Ferrichlorids oder Kaliumsilikats begünstigt wird, oder ob die reinen Salze selbst wesentliche Bestandteile der Gesamtnährlösung darstellen, wurde diese im Versuch der Tab. 13 folgendermaßen abgeändert:

H_2O 100, Glukose 2,0, Na_2HPO_4 0,1, $CaSO_4 \cdot 2\ H_2O$ 0,1, $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ 0,01, $MnSO_4 \cdot 7\ H_2O$ 0,01. Dazu:

1.	$FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ (roh)	0,03
	$K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$ (roh)	0,15
2.	$FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ (rein)	0,03
	$K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$ (rein)	0,15
3.	$FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ (rein)	0,03
	K_2SO_4 (rein)	0,1
4.	$FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$ (rein)	0,03
	$K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$ (rein)	0,15

Sämtliche Lösungen wurden wieder mit H_2SO_4 angesäuert und mit $CaCO_3$ im Überschuß versetzt.

Tabelle 13.
13.—17. Oktober 1938.

In der Nährlösung enthalten	mg N in 100 ccm			
	A. chroococcum		A. vinelandii	
$FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ roh + $K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$ roh	5,3	5,0	8,4	8,3
$FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ rein + $K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$ rein	9,7	8,8	12,0	10,1
$FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$ rein + K_2SO_4 rein	3,1	3,5	6,3	5,0
$FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$ rein + $K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$ rein	9,5	7,3	12,5	11,9

Die Analysenzahlen beweisen, daß in diesem Versuch Ferrichlorid durch Ferrosulfat ohne Nachteil ersetzt werden konnte, nicht jedoch Kaliumsilikat durch Kaliumsulfat. Da aber nicht nur in der rohen, sondern noch besser in der aus analysenreinen Salzen synthetisierten Nährlösung eine Stickstoffbindung zweifellos stattgefunden hat, muß nunmehr angenommen werden, daß Molybdän nicht nur durch Vanadium und Wolfram, sondern ebenfalls bis zu einem gewissen Grade durch Silicium in Gemeinschaft mit Mangan vertretbar ist. Über die Wirkungsweise besonders des Siliciums kann vorläufig nichts ausgesagt werden. Es besteht einerseits die Möglichkeit, daß es innerhalb der Zelle wirkt, und andererseits, daß es außerhalb der Zelle als kolloidale Kieselsäure eine Oberflächenwirkung entfaltet. Ähnliches gilt für Mangan und Aluminium. Daß auch Mangan in dieser Lösung fördernd gewirkt hat, wurde hier zwar nicht bewiesen, ist aber auf Grund der Versuchsergebnisse der Tab. 12 und noch folgender anzunehmen. Im übrigen hat Stoklasa (1908) schon beobachten können, daß Atmung und Stickstoffbindung von Azotobakter durch Mangan sehr stark gefördert werden. Für die einmalige Feststellung der weniger günstigen Wirkung des Ferrosulfats an Stelle des Ferrichlorids (Tab. 12), die sich nicht bestätigen ließ, kann vorläufig keine Erklärung gegeben werden.

Tabelle 14.
18.—22. November 1938.

Zu 100 ccm gegeben 30 mg $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ (Fe) bzw. 10 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2 H_2O$ (Mo) „ 0,1 mg $NaVO_3 \cdot 4 H_2O$ (V) „ 10 mg $MnSO_4 \cdot 7 H_2O$ (Mn) „ 100 mg $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18 H_2O$ (Al) „ 150 mg $K_2SiO_3 \cdot 1 H_2O$ (Si)	mg N in 100 ccm A. chroococcum		mg N in 100 ccm A. vinelandii		Farbe der Nährlösung von A. vinelandii
—	1,7	1,7	1,8	2,0	farblos
Fe			2,1	2,4	farblos
Mo			3,4	3,6	gelb
V			2,2	2,0	gelb-grüne Fluoresz.
Si			2,0	1,8	gelb-grüne Fluoresz.
Mn			3,6	3,1	gelb-grüne Fluroesz.
Al			1,3	1,1	schw. bläulich-grüne Fluoreszenz
Fe Mo	2,5	2,5	3,1	3,1	farblos
Fe V			2,2	2,8	farblos
Fe Si			1,8	4,3	farblos
Fe Mn			5,2	5,6	farblos
Fe Al			1,7	1,7	farblos
Si Mn			1,4	1,4	gelb-grüne Fluoresz.
Si Al			1,5	1,7	bläul.-grüne Fluor.
Mn Al			2,0	1,7	bläul.-grüne Fluor.
Si Mn Al			1,5	1,5	bläul.-grüne Fluor.
Fe Si Mn	2,2	2,4	8,3	7,8	bräunlich-rot
Fe Si Al			4,1	5,2	farblos
Fe Mn Al			1,5	1,7	farblos
Fe Si Mn Al			8,3	7,3	bräunlich-rot
Fe Si Mn Al Mo V	13,7	14,0	12,9	13,7	bräunlich-rot

Es ist überhaupt eigenartig, daß die Versuche zum Teil grundsätzlich verschiedene Ergebnisse hatten. Während z. B. in Tab. 10 und Anhang die

Nährlösung nach Kaserer mit und ohne Molybdänzusatz keineswegs günstiger auf die Stickstoffbindung gewirkt hat als die Kombination Eisen-Molybdän, konnten später im Versuch der Tab. 14[1]) mit Silicium, Mangan und Aluminium neben Eisen, Molybdän und Vanadium bedeutend größere Stickstofferntem erzielt werden als mit Eisen und Molybdän allein.

A. vinelandii hat sogar mit der Kombination nach Kaserer ohne Molybdän mehr Stickstoff gebunden als in der bisher sehr bewährten, nur Eisen und Molybdän enthaltenden Lösung, während dieses Wirkungsverhältnis im Versuch der Tab. 10 umgekehrt lag. Da zur Zeit des Versuchs der Tab. 14 die Wetterlage besonders ungünstig war [Stapp und Bortels (1937)], womit im November und Dezember immer gerechnet werden muß, so dürfte die Ursache für die Umkehrung im Verhältnis der Wirkungsgrößen beider erwähnter Nährlösungen im veränderten Wetterfaktor zu suchen sein. In dieser ungünstigen Jahreszeit ist z. B. auch die fördernde Wirkung der Eisen-Molybdän-Kombination auf A. chroococcum hinter derjenigen einer Eisen-Vanadium-Gabe zurückgeblieben (Tab. 15), was bei einigermaßen depressionsarmen Wetterverhältnissen niemals festgestellt werden konnte.

Tabelle 15.
28. November bis 2. Dezember 1938.

Zu 100 ccm gegeben	mg N in 100 ccm	
10 mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (Fe) bzw. 1 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ (Mo) „ 0,1 mg $NaVO_3 \cdot 4\,H_2O$ (V)	A. chroococcum	
—	1,0	1,3
Fe Mo	1,4	1,3
Fe V	3,9	3,9

Dieser Einfluß des Wetterfaktors, der eine Klärung des hier behandelten Problems der Wirkung von Spurenelementen ungemein erschwert, wird an anderer Stelle noch ausführlicher zu erörtern sein. Nur auf die Arbeit von Schröder (1932) sei noch kurz hingewiesen, in der durch Analysenzahlen belegt worden ist, daß A. chroococcum zum Wachstum in stickstofffreier Nährlösung außer Eisen und Molybdän noch Wolfram, Silicium, Kupfer und Zink benötigt. Wenn das bisher auch nicht bestätigt werden konnte und Schröder selbst später offenbar bezüglich der Richtigkeit dieser ihrer Feststellung Zweifel bekommen hat, so muß nunmehr die Möglichkeit zugegeben werden, daß ihre Versuche unter einem ähnlichen ungewöhnlichen Wettereinfluß gestanden haben wie die hier erwähnten Versuche der Tab. 14, 16 und 17.

Da die Entwicklung und Stickstoffbindung der Bakterien im Versuch der Tab. 14 allgemein außerordentlich schwach waren, wurde nur die Reihe mit A. vinelandii vollständig analysiert. Die Zahlen geben über die Wirkung einzelner Spurenelemente sowie gewisser Kombinationen unter den vorliegenden Versuchs- und Wetterbedingungen Aufschluß. Aluminium hat auch diesmal in den meisten Fällen nicht fördernd gewirkt. Nur in Gemein-

[1]) Die Grundnährlösung bestand in diesem wie in den noch folgenden Versuchen der Tab. 16 und 17 aus: H_2O 100, Glukose 2,0, Na_2HPO_4 0,1, $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$ 0,01. Die siliciumfreien Lösungen erhielten an Stelle des $K_2SiO_3 \cdot 1\,H_2O$ 0,1% K_2SO_4. Sämtliche Lösungen wurden erst mit derselben Menge H_2SO_4 schwach angesäuert und dann mit der gleichen Menge $CaCO_3$ im Überschuß versetzt.

schaft mit Eisen und Silicium hat es den Stickstoffgewinn erhöht. Die überragend starke Förderung der Stickstoffbindung in der alle zusätzlichen Salze enthaltenden Nährlösung ist offenbar der gemeinsamen Wirkung von Eisen, Molybdän, Vanadium, Silicium und Mangan zu verdanken, wie aus der Tab. 16 hervorgeht.

Tabelle 16.

10.—14. Dezember 1938.

Zu 100 ccm gegeben 30 mg $FeSO_4 \cdot 7\ H_2O$ (Fe) bzw. 10 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\ H_2O$ (Mo) „ 0,1 mg $NaVO_3 \cdot 4\ H_2O$ (V) „ 10 mg $MnSO_4 \cdot 7\ H_2O$ (Mn) „ 100 mg $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18\ H_2O$ (Al) „ 150 mg $K_2SiO_3 \cdot 1\ H_2O$ (Si)	A. vinelandii mg N in 100 ccm		A. vinelandii Farbe der Nährlösung
Fe	3,5	3,6	farblos
Fe Mo	5,7	5,7	farblos
Fe Si Mn	9,4	9,8	sehr schwach braun
Fe Si Mn V	14,0	16,8	schwach braun
Fe Si Mn Mo	25,9	26,5	braun
Fe Si Mn Mo V	28,0	28,3	braun
Fe Si Mn Mo V Al	17,2	19,0	sehr schwach braun + schw. grüne Fluoresz.

Auch hier zeigt sich wieder die verhältnismäßig schwache Wirkung von Eisen und Molybdän allein. Eine Steigerung der Eisen-Silicium-Mangan-Wirkung ist auch durch Vanadium möglich, das jedoch hier ebenso wie in Kombination mit Eisen allein gewöhnlich nicht so stark zu fördern scheint wie Molybdän. Die den Tab. 14 und 16 zugrunde liegenden Versuche haben vor allem bewiesen, daß es möglich ist, den Wettereinfluß, der sich in Gegenwart von nur einigen wenigen Spurenelementen wie Eisen und Molybdän sehr stark bemerkbar macht, durch Anwendung reichhaltigerer Mischkatalysatoren weitgehend abzuschwächen. Dabei bleibt es zunächst unentschieden, ob die fördernde Wirkung aller Mischungsbestandteile mehr vom echt Gelösten oder vom kolloidal Gelösten oder vom Niederschlag ausgeht, und ob mit anderen Mischungen von Spurenelementen und Kolloiden nicht ebenso gute oder noch bessere Wirkungen erreichbar sind.

Die Frage, ob eine weitere Wirkungssteigerung in Lösungen mit Eisen, Silicium, Mangan, Molybdän und Vanadium durch Zugabe von Wolfram möglich ist, muß auf Grund der Zahlen von Tab. 17 verneint werden, wobei wieder zu bedenken ist, daß die Ergebnisse bei anderem Wetter möglicherweise etwas anders ausfallen können. Die Wirkung eines der untersuchten Elemente, ob fördernd oder hemmend, ist ferner, wie auch aus diesen Analysen hervorgeht, abhängig von der Gegenwart oder Abwesenheit anderer. So hat z. B. Wolfram auf A. vinelandii in der Nährlösung mit Eisen, Silicium und Mangan hemmend, mit Eisen, Silicium, Mangan und Molybdän dagegen fördernd gewirkt. Ein fördernder Einfluß des Siliciums auf die Stickstoffbindung ist in Tab. 17 nirgends zu erkennen. Es kann darum auch nicht in gleicher Weise wirken wie Agar, das in diesem Versuch die Stickstoffwerte der mangan- und molybdänhaltigen Lösungen deutlich erhöht hat. Auffallend sind wieder die teilweise starken Unterschiede in den Parallelwerten, wofür zunächst jede Erklärung fehlt, sowie das unterschiedliche Verhalten von

Tabelle 17.
7.—11. Januar 1939.

Zu 100 ccm gegeben: 30 mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (Fe) bzw. 10 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$ (Mo) „ 0,1 mg $NaVO_3 \cdot 4\,H_2O$ (V) „ 0,01 mg $Na_2WO_4 \cdot 2\,H_2O$ (W) „ 10 mg $MnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (Mn) „ 150 mg $K_2SiO_3 \cdot 1\,H_2O$ (Si) „ 100 mg Agar	mg N in 100 ccm			
	A. chroococcum		A. vinelandii	
Fe Mo	3,4	4,8	9,3	8,0
Fe Mn Mo	24,5	22,2	27,1	27,0
Fe Mn Mo V W	23,7	25,0	27,9	28,1
Fe Si Mn	1,7	1,9	12,1	12,6
Fe Si Mn Mo	15,8	19,5	17,2	19,4
Fe Si Mn V	16,6	19,1	20,9	21,6
Fe Si Mn W	1,6	2,5	9,0	9,8
Fe Si Mn Mo V	15,8	16,7	20,9	29,8
Fe Si Mn Mo W	23,9	27,8	24,7	26,4
Fe Si Mn V W	20,6	20,6	11,0	11,6
Fe Si Mn Mo V W	13,5	17,1	17,2	18,7
Fe Mo Agar	4,7	5,0	7,6	7,8
Fe Mn Mo Agar	26,4	29,6	32,7	33,0
Fe Mn Mo V W Agar	26,2	28,0	27,4	32,4
Fe Si Mn Mo Agar	23,9	25,9	24,7	31,2
Fe Si Mn Mo V W Agar	17,5	18,6	18,4	20,8

A. vinelandii und A. chroococcum (z. B. beim Vergleich von Fe Mo mit Fe Si Mn). Die Nährlösungen von einfachster Zusammensetzung und zugleich günstigster Wirkung auf die Stickstoffbindung sind die mit Eisen, Mangan und Molybdän und mit Eisen, Mangan, Molybdän und Agar. Demnach scheinen die wichtigsten der untersuchten Faktoren Eisen, Molybdän, Mangan und Agar zu sein. In nur Eisen und Molybdän enthaltenden Lösungen ist dagegen bei vorherrschender Tiefdruckwetterlage wieder nur sehr wenig Stickstoff gebunden worden. Es muß späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, zu entscheiden, ob unter dem Einfluß eines starken Hochdruckgebietes, wenn also schon mit Eisen und Molybdän allein ähnliche Stickstoffgewinne erzielt werden wie hier mit Eisen, Molybdän, Mangan und Agar, diese Zusammensetzung der Nährlösung auch dann noch eine entsprechend stärkere Stickstoffbindung ermöglicht.

Wahrscheinlich wird das nicht der Fall sein, sondern beide Werte werden sich voraussichtlich etwas oberhalb des in Tab. 17 enthaltenen Höchstwertes angleichen. Außerdem besteht aber auch die Möglichkeit, daß dann das Verhältnis umgekehrt liegt. Vorläufig ließ sich nur zeigen (Tab. 18), daß schon bei einer etwas günstigeren Wetterlage die Stickstoffgewinne in den genannten Nährlösungen bei A. chroococcum fast völlig gleich groß waren, bei A. vinelandii dagegen zwar auch eine deutliche aber nicht ebenso starke Angleichung an einen Höchstwert erfahren haben. Entsprechend war die Manganwirkung in den agarfreien Lösungen für beide Azotobakterarten charakteristisch. Während dieses oxydationskatalytisch wirksame Element, das jedoch Eisen nicht ersetzen kann, auf A. chroococcum diesmal keineswegs fördernd, sondern eher etwas hemmend gewirkt hat, wurde durch seine Anwesenheit die Stickstoffbindung von A. vinelandii

Tabelle 18.
13.—17. Februar 1939.

Zu 100 cm gegeben: 30 mg $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ (Fe) bzw. 10 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ (Mo) „ 10 mg $MnSO_4 \cdot 7 H_2O$ (Mn) „ 100 mg Agar	mg N in 100 ccm				Farbe der Nährlösung von A. vinelandii
	A. chroococcum		A. vinelandii		
Fe Mo	27,9	24,6[1]	21,7	23,7	braun
Mn Mo	3,8	6,3	4,9	5,5	gelb
Fe Mn Mo	26,2	24,8[1]	23,4	25,2	braun
Mn Mo Agar	9,0	9,7	15,3	14,6	gelb
Fe Mn Mo Agar	30,5	31,1	32,9	33,9	schwach braun

[1]) Beim Aufschluß Verlust durch Zerspringen des Kolbens.

noch ein wenig gefördert. Das entspricht dem Verhalten beider Arten gegenüber Eisen und Agar und somit der geäußerten Anschauung, daß A. vinelandii einer stärkeren oxydationskatalytischen Unterstützung bedarf als A. chroococcum. Die Feststellung, daß typisch oxydationskatalytisch wirksame Elemente wie Mangan mit einer günstigeren Gestaltung der Wetterverhältnisse ihre fördernden Eigenschaften einbüßen und schließlich sogar hemmende annehmen können, gibt zur Vermutung Anlaß, daß auch der Wettereinfluß vornehmlich auf den Atmungsstoffwechsel gerichtet ist.

IV.

Eisen ist, soweit dieses geprüft wurde, ein ausschlaggebender Bestandteil aller Nährlösungen. Wenn es deshalb und wegen der Ergebnisse in Abschnitt III den Anschein hat, als ob die biologische Stickstoffbindung ebenso wie die chemisch-technische durch verschiedene eisenhaltige Mischkatalysatoren gefördert werden könnte, so ist es doch trotz der etwas überraschenden Versuchsergebnisse mit den Katalysatoren aus Kaserers Nährlösung und trotz des auffallenden Verhaltens von A. vinelandii unwahrscheinlich, daß diese Feststellungen lediglich auf eine unmittelbare Rolle des Eisens bei der Katalyse der biologischen Stickstoffbindung zurückzuführen sind. Zu bedenken sind jedenfalls schon die Tatsachen, daß, wie eingangs bereits erwähnt, auch nicht stickstoffbindende Mikroorganismen außergewöhnlich eisenbedürftig sein können, und daß mit der Zufuhr größerer Mengen von Verbindungen des Eisens oder anderer Elemente zur Nährlösung nicht nur die Konzentration dieses bzw. anderer Elemente, sondern noch viele weitere Faktoren tiefgreifend verändert werden können, wie z. B. Reaktion, Pufferung und Redoxpotential der Lösung, Oberflächenwirkung von Niederschlägen sowie Zustandsform und Aufnehmbarkeit des Eisens, Phosphats usw. Auf diese verwickelten Verhältnisse hat Rippel (1937/38) schon hingewiesen.

Vor allem ist aber zu berücksichtigen, daß Eisen eine fördernde Wirkung auch auf andere lebenswichtige Reaktionen ausübt, wodurch sekundär die Stickstoffbindung begünstigt wird. Es ist sicher, daß dieses Element im Atmungsstoffwechsel von Azotobakter wie von anderen Organismen eine wichtige Funktion versieht, und daß diese Bakterien nach Nilsson (1936) ebenso wie Hefe das Zuckermolekül in der anaeroben Phase nach Phosphory-

lierung aufspalten und die Spaltprodukte dann in der aeroben Phase oxydieren, wodurch die Energie zur Synthese geliefert wird. Wenn nun diese energieliefernde Oxydation infolge Eisenmangels gelähmt ist, dann wird auch die Synthese der niedermolekularen Stickstoffverbindungen mit den Glukosespaltprodukten zu Zelleiweiß nicht glatt verlaufen. Ebenso ist es möglich, daß unter solchen Verhältnissen ein stärkerer Abbau von Zelleiweiß durch Spaltungsreaktionen stattfindet und infolgedessen eine vermehrte Stickstoffausscheidung.

Tabelle 19.

28. Juni bis 2. Juli 1938.

Zu 100 ccm gegeben		A. vinelandii				
mg $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\,H_2O$	mg N in 100 ccm Lösung	mg N in Sediment von 100 ccm	mg Gesamt-N	gelöster N in % des Gesamt-N	Farbe der Nährlösung
0,05	0,005	4,4	6,9	11,3	38,9	stark grüne Fluoreszenz
0,05	0,005	4,5	7,0	11,5	39,1	
0,05	5,0	3,8	5,9	9,7	39,2	gelb + schwach grüne Fluoreszenz
0,05	5,0	3,9	6,6	10,5	37,1	
5,0	5,0	3,4	24,5	27,9	12,2	braun
5,0	5,0	3,5	25,3	28,8	12,2	
5,0	0,005	2,1	—	—	—	bräunl.-violettrot
5,0	0,005	2,1	16,5	18,6	11,3	

Auf diese Weise kann es vielleicht zu den im Versuch der Tab. 19 ermittelten Analysenzahlen kommen. Sie zeigen, daß die eisenarmen, durch A. vinelandii grün fluoreszierend gefärbten Nährlösungen einen großen Hundertsatz des gebundenen Stickstoffs in gelöster Form enthalten, die eisenreichen, braun bis rot gefärbten dagegen nur einen verhältnismäßig kleinen.

Um eine Trennung der Bakterien von der Lösung herbeizuführen, wurde diese etwa 45 Min. lang bei 3000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit ließ sich dann gut vom Sediment abgießen, das mit physiologischer Kochsalzlösung wieder aufgeschwemmt und nochmals zentrifugiert wurde. Beide Flüssigkeiten wurden miteinander vereinigt und diese wie das Sediment getrennt auf ihren Stickstoffgehalt analysiert.

Wenn Eisen weniger unmittelbar an der eigentlichen Stickstoffbindung beteiligt ist als Molybdän, vielmehr in erster Linie an der energieliefernden Oxydation des aeroben Zuckerabbaues, dann ist es möglich, daß Azotobakter in gewissen Grenzen um so ökonomischer Stickstoff binden wird, je mehr Eisen ihm im Verhältnis zum Molybdän zur Verfügung steht. Für diese Annahme spricht das Verhalten von A. vinelandii. A. chroococcum hat dagegen etwas anders reagiert. Der Anteil des gelösten Stickstoffs am Gesamtstickstoff ist bei A. chroococcum in der Lösung mit stark überwiegendem Eisengehalt zwar kleiner als in den eisenarmen Lösungen, aber deutlich größer als in jener Lösung, die nicht nur viel Eisen, sondern auch viel Molybdän enthält. Ebenso entsprechen die ökonomischen Quotienten für A. chroococcum den obigen theoretischen Annahmen nicht so vollkommen, wie die von A. vinelandii, die genau in dem Maße ansteigen, wie der Eisengehalt der Nährlösung steigt und der Gehalt an Molybdän ab-

Tabelle 20.

Azotobakter-Art	Zu 100 ccm gegeben		g verbrauchte Glukose je 100 ccm in 2,25proz. Lösung	mg N gebunden in		mg Gesamt-N gebunden in 100 ccm	Gelöster N in Prozent des Gesamt-N	mg N gebunden je 1 g verbrauchter Glukose
	mg $FeSO_4 \cdot 7\, H_2O$	mg $Na_2MoO_4 \cdot 2\, H_2O$		100 ccm Lösung	Sediment von 100 ccm			
A. chroococcum	0,05	0,005	0,35 0,38	0,6 0,8	1,7 2,0	2,3 2,8	26,1 28,6	6,6 7,4
	0,05	5,0	0,43 0,43	0,8 0,6	2,5 2,5	3,3 3,1	24,2 19,4	7,7 7,2
	5,0	5,0	0,92 0,85	1,1 0,8	11,8 10,9	12,9 11,7	8,5 6,8	14,0 13,8
	5,0	0,005	0,29 0,38	0,8 0,6	4,1 3,5	4,9 4,1	16,3 14,7	16,9[1]) 10,8[1])
A. vinelandii	0,05	0,005	1,01 0,75	3,1 2,0	5,0 3,9	8,1 5,9	38,1 33,9	8,0 7,9
	0,05	5,0	1,10 0,95	3,1 2,2	4,5 3,9	7,6 6,1	40,8 36,1	6,9 6,4
	5,0	5,0	2,20 2,20	2,5 2,2	19,3 20,6	21,8 22,8	11,5 9,6	9,9 10,4
	5,0	0,005	1,28 1,13	1,1 1,1	14,6 12,7	15,7 13,8	7,9 8,0	12,3 12,2

[1]) Der große Unterschied zwischen diesen beiden Werten ist wahrscheinlich auf einen Analysenfehler bei der Glukosebestimmung zurückzuführen, und zwar dürfte der zweite Wert nicht stimmen.

nimmt. Immerhin liegen die Quotienten auch bei A. chroococcum für die eisenreichen Lösungen höher als für die eisenarmen, und es scheint, als ob die Stickstoffbindung dieser Azotobakterart unter den gewählten Versuchsbedingungen allgemein ökonomischer verläuft als diejenige von A. vinelandii. Auch das unterschiedliche Verhalten beider Arten in diesen Versuchen entspricht vollkommen den schon erwähnten diesbezüglichen Beobachtungen.

Nach den vorliegenden Feststellungen und denjenigen anderer Autoren steht zwar die große Bedeutung des Eisens für die stickstoffbindenden Azotobakterarten außer Zweifel. Jedoch ist hiermit die Frage, ob dieses Element die biologische Stickstoffbindung nicht nur mittelbar, sondern auch unmittelbar fördert, noch nicht eindeutig beantwortet. Wenn auch die Annahme, daß der biologische Vorgang in ähnlicher Weise wie das technische Verfahren der Ammoniaksynthese durch verschiedene eisenhaltige Mischkatalysatoren angeregt werden kann, durchaus im Bereich der Möglichkeit liegt, so ist sie doch noch unbewiesen.

Zusammenfassung.

Bei vergleichender Untersuchung der beiden Azotobakterarten A. chroococcum und A. vinelandii bezüglich ihres Verhaltens gegenüber verschiedenen Konzentrationsverhältnissen zwischen Eisen und Molybdän bzw. Vanadium sowie gegenüber anderen Spurenelementen und Agar in synthetischer stickstofffreier Nährlösung hat sich folgendes ergeben:

1. Die Farbstoffbildung von A. vinelandii ist in erster Linie abhängig von der Konzentration des Eisens, in zweiter Linie auch von derjenigen des Molybdäns und anderer Spurenelemente. Im einzelnen wird die Nährlösung bei sehr kleinen Eisen- und Molybdängaben fluoreszierend grün gefärbt, bei kleiner Eisen- und großer Molybdängabe gelb mit schwach grüner Fluoreszens, bei großer Eisen- und großer Molybdängabe braun und bei großer Eisen- und kleiner Molybdängabe bräunlich-violettrot.

2. Bei Ansäuern mit Salzsäure verschwinden sämtliche Farben bis auf die gelbe, die nur schwächer wird. Nach dem Ansäuern läßt sich mit Äther nur aus den ursprünglich braunen bis roten Lösungen etwas ausschütteln, das aus dem Äther wieder in alkalisches Wasser übertritt und hier mit einer Spur Ferrosulfat eine bräunlich-rote Färbung ergibt. Die violett-roten Lösungen enthalten außerdem einen ätherlöslichen Stoff, der mit Eisen eine violett gefärbte Verbindung gibt. Die grün fluoreszierende Substanz ist bei alkalischer Reaktion im Licht nicht beständig. Unter dem Einfluß des Sonnenlichtes entstehen aus ihr die mit Ferrosulfat sich braunrot und violett färbenden Verbindungen.

3. Hinsichtlich der Stickstoffbindung verhält sich A. chroococcum anders als A. vinelandii, und zwar wird letzterer zuweilen schon durch größere Eisengaben allein wie auch durch Agar in Abwesenheit von Molybdän gefördert, A. chroococcum nicht oder nur unwesentlich.

4. In der eisenreichen, außerdem Silicium, Mangan und Aluminium enthaltenden Nährlösung nach Kaserer vermag sowohl A. chroococcum als auch vor allem A. vinelandii in Abwesenheit von Molybdän und Vanadium Stickstoff zu binden.

5. Von allen untersuchten verschiedenartig zusammengesetzten Nährlösungen haben sich diejenigen in ihrer günstigen Wirkung am beständigsten

erwiesen, die außer Eisen und Molybdän mindestens noch Mangan und Agar enthielten. In ihnen haben beide Azotobakterarten auch dann noch große Mengen Stickstoff gebunden, wenn bei ungünstiger Wetterlage in Gegenwart von Eisen und Molybdän allein die Stickstoffgewinne nur sehr gering waren.

6. Eisenarme Nährlösungen enthalten einen größeren Hundertsatz des gebundenen Stickstoffs in gelöster Form als eisenreiche.

7. In gewissen Grenzen ist der ökonomische Quotient beider Azotobakterarten in eisenreichen Nährlösungen größer als in eisenarmen und steigt außerdem bei A. vinelandii mit sinkender Molybdänkonzentration.

Literatur.

Birch-Hirschfeld, L., Über den Einfluß von Molybdän und Bodenextraktstoffen auf die N-Bindung von Azotobacter chroococcum. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 3. 1932. S. 341—361.) — Bortels, H., Über die Bedeutung von Eisen, Zink und Kupfer für Mikroorganismen. [Unter besonderer Berücksichtigung von Aspergillus niger.] (Bioch. Ztschr. Bd. 182. 1927. S. 301—358.) — Bortels, H., Weitere Untersuchungen über die Bedeutung von Molybdän, Vanadium, Wolfram und anderen Erdaschenstoffen für stickstoffbindende und andere Mikroorganismen. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 95. 1936. S. 193—218.) — Burk, D., Lineweaver, H., and Horner, C. K., Iron in relation to the stimulation of growth by humic acid. (Soil Sci. Vol. 33. 1932. p. 413—453.) — Kaserer, H., Zur Kenntnis des Mineralstoffbedarfs von Azotobakter. (Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 28. 1910. S. 208—212.) — Kluyver, A. J. und van Reenen, W. J., Über Azotobacter agilis Beijerinck. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 4. 1933. S. 280—300.) — Kovats, J., Über den Einfluß von Eisen und Molybdän auf die Stickstoffbindung durch Azotobacter in Gegenwart von Humussubstanzen oder von deren Aschen. (Bull. Acad. Polon. des Sci. et des Lettres. Classe Sci. Mathém. et Nat.-Série B: Sci. Nat. (I) 1938. p. 91—112.) — Krzemieniewski, S. und Kovats, J., Über den Einfluß von Molybdän auf die Stickstoffbindung durch Azotobacter chroococcum Beij. (Bull. Acad. Polon. des Sci. et des Lettres. Classe Sci. Mathém. et Nat.-Série B: Sci. Nat. (I) 1936. p. 169—195.) — Lasseur, Ph., Influence du fer sur la végétation et la coloration des cultures de diverses bactéries. (Compt. Rend. Soc. Biol. T. 74. 1913. p. 496—498.) [Ref.: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 39. 1913. S. 188.] — Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. (Teil 2, Text. 7. Aufl. München 1927.) — Nilsson, R., Zur Kenntnis des Stoffwechselmechanismus in Azotobacter chroococcum. 1. Mitt.: Variabilität des Oxydoreduktionssystems bei Züchtung auf verschiedenen Nährböden. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 598—612.) — Remy, Th. und Rösing, G., Über die biologische Reizwirkung natürlicher Humusstoffe. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 30. 1911. S. 349—384.) — Rippel, A., Eisen-, Agar- und Humuswirkung bei Azotobacter. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 590—597.) — Rippel, A., Agar-, Molybdän- und Eisenwirkung bei Azotobacter. Eine Richtigstellung. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 479.) — Rippel, A., unter Mitwirkung von Brigitte Lehmann, Über die Wirkung von geringen Mengen Agar auf Wachstum und Stickstoffbindung von Azotobacter und auf andere mikrobiologische Vorgänge. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 210—234.) — Rippel, A. und Lehmann, Brigitte, Über Eiweißbildung durch Bakterien. 1. Mitt.: Erfahrungen bei der Herstellung einer synthetischen Nährlösung mit Glykokoll als Stickstoffquelle. (Arch. f. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 41—65.) — Schröder, M., Die Assimilation des Luftstickstoffs durch einige Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 85. 1932. S. 177—212.) — Séguy, E., Code universel des couleurs. (Paris 1936.) — Stapp, C. und Bortels, H., Azotobakter-Wachstum und Stickstoffbindung in Abhängigkeit vom Wetter. Vorl. Mitt. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 497—499.) — Stoklasa, J., Beitrag zur Kenntnis der chemischen Vorgänge bei der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Azotobacter und Radiobacter. (Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 21. 1908. S. 484—509 und 620—632.) — Ter Meulen, H., Sur la répartition du molybdène dans la nature. (Recueil des Trav. Chim. des Pays-Bas. T. 50. 1931. p. 491—504.)

The Microbiology of Silage made by the Addition of Mineral Acids to Crops rich in Protein.

I. Quantitative Chemical and Bacteriological Data.

[From The College of Agriculture, Edinburgh.]

By **A. Cunningham** and **A. M. Smith.**

With 4 Figures in the Text.

Considerable attention has recently been devoted to the possibility of preserving green fodder crops by additions of mineral acids. The aim of investigators in this field has been to raise the hydrogen-ion concentration of the materials so rapidly and to such a level that losses of nutrients due to respiration of plant cells and activities of micro-organisms are greatly retarded or completely inhibited. While several methods (5) have been suggested for accomplishing these objects, those which have attracted most attention are:

(1) Acidification with hydrochloric acid to a pH of about 2.0 — Fingerling (3).
(2) Addition of a mixture of hydrochloric and phosphoric acids (Defu solution) proposed by Kirsch and Hildebrandt (6) or phosphorus pentachloride and water (Penthesta).
(3) The A. I. V. process which depends upon the incorporation in the fodder of a mixture of hydrochloric and sulphuric acids — Virtanen (17).

A study of the results of experiments carried out to determine the value of these methods indicates that practical considerations impose certain limits on the acidities which can be usefully employed. If the pH falls below 3.0, difficulty is experienced in inducing live stock to consume the silage. On the other hand, when the pH is allowed to remain above 4.0, it is claimed that losses of nutrients are considerably increased. Experimental data suggest that, when care is exercised, pH values about 4.0 can often be attained by means of the low temperature fermentation process. Outside the zone pH 3.0 to 4.0, therefore, the practical utility of employing additions of mineral acids for the preservation of green fodder seems to be limited. The speedy acidification of the crop to a pH between 3.0 and 4.0 is the chief aim of the A. I. V. process. In the work to be described the A. I. V. method was employed throughout, but attempts to keep the pH of the silage between the limits referred to were not invariably successful.

The objects of these investigations were:

(1) to determine whether in the A. I. V. process microbiological or other activity takes place in the silage and if so
(2) to investigate
  (a) the nature of the changes produced,
  (b) the numbers and types of organisms which may be found in the silage.

At the outset it was realised that, in order adequately to test the preservative effects of the A. I. V. method, it would be advisable to employ materials rich in protein. Crops which contain moderate percentages of protein and considerable proportions of carbohydrate are readily ensiled by the low temperature fermentation method owing to the fact that they favour an active lactic acid fermentation. If such materials are used to test the A. I. V. process, they will in any case be preserved provided the additions of acid do not seriously retard or inhibit the lactic acid fermentation. On the other hand, protein-rich fodders such as pure leguminous crops and young grass are more difficult to preserve by low temperature fermentation and are, therefore, pre-eminently suitable for testing a method like that elaborated by Virtanen.

Materials and Methods.

Preparation of the Silage. The crops ensiled consisted of ryegrass-clover (series 1, 3 and 4) and bean-pea-vetch (series 2) mixtures. In series 1 and 2 the silage was made in large wooden silos each capable of holding about 20 tons of material: in series 3 and 4 the fodder was ensiled in six barrels in each case. The volume of acid required was calculated in the laboratory by mixing definite volumes with equal quantities of the crop to be ensiled and determining the amount necessary to lower the pH of the mixture to approximately 3.5. The acid was applied in the form of a spray by hand pump in the case of the silos and by watering can in that of the barrels, and the material was compressed by thorough treading during the operation of filling. In the case of series 4, sufficient fodder for six barrels was mixed with acid prior to filling: in the other three series the acid was applied to the material as the receptacles were being filled. The surface layers were sprayed with mustard oil fungicide to restrict the growth of moulds and covered with sacking held in position by a layer of soil about one foot deep.

Sampling. Series 1 consisted of five and series 2 of ten (Nos. 8 to 19) samples. These were taken at depths varying from 1½ to 6 feet from the original surface of the silage at intervals during the period when it was being fed to animals. Samples were obtained either from the centre of the silo or about mid-way between the centre and the periphery. The material was sampled 18 to 25 weeks after ensiling. In series 3 (Nos. 25 to 36) and 4 (Nos. 59 to 70) the barrels were opened in succession at intervals of one to three weeks during the three months after ensiling and two samples were taken from the centre of each barrel at depths of 1 to 1½ and 1½ to 2 feet respectively from the surface of the silage. In the silos the samples were taken at a depth of 1 to 2½ feet below the exposed surface of the material. In all cases the surface layers to a depth of about 6 inches were first removed by means of a hay fork. A hay knife was cleaned by pushing it several times into the silage to a depth of about 12 to 18 inches. Starting from the surface exposed by the fork a block of silage about 6 to 8 inches square and 12 inches deep was cut by means of the knife. The material in this block was then removed to the required depth. For bacteriological examination a quantity of silage from the bottom of the cavity was carefully withdrawn by means of a sterile hand digging fork and placed in a sterile biscuit tin. The tins were transported to the laboratory without delay. The samples were kept in a refrigerator at 0° to 4° C. until they could be examined and bacteriological examinations were carried out within periods of five hours from sampling. Material for chemical analysis was collected from points immediately above and below the samples taken for the bacteriological work. Nos. 6 and 7, 22 and 23, and 57 and 58 were samples of the fresh crops from which the silage in series 2, 3 and 4 respectively was prepared.

Bacteriological Examination. Ten gram quantities of silage were used for bacteriological examination. Several small portions representative of the whole of each sample were first selected. The ends of the material which had been in contact with the hay knife during sampling were removed by means of sterile scissors and discarded. The selected portions of silage were then cut into small pieces and transferred aseptically to sterile Petri dishes and weighed. The weighed quantities of silage were placed in sterile mortars and thoroughly macerated in small volumes of sterile water. The suspensions so prepared as well as the whole of the solid material

were transferred aseptically to sterile cylindrical glass-stoppered bottles of about 4 cm. diameter and the levels of the liquids were adjusted to 100 ml. marks on the sides of the bottles by the addition of sterile water.

The suspensions prepared as described were thoroughly shaken for 2 to 3 minutes, and microscopic counts of the organisms present were made by a modification of the original Breed (2) method for milk samples. To facilitate the counting of the micro-organisms in the films prepared from the suspensions, a glass disc with a circle 5 mm. in diameter described upon it near its centre was placed in the ocular and the organisms in 50 circles per suspension were counted. The microscopic enumeration of bacteria in suspensions of silage presents special difficulties owing to the large amount of solid material which may tend to conceal numbers of these organisms. Areas on the slides which contained considerable quantities of fodder particles were, therefore, as far as possible avoided. It was often impossible to distinguish the smaller organisms from particles of plant material. In particular it was frequently difficult to decide whether single coccoid bodies were micro-organisms or merely fine particles of silage. In the enumerations carried out on the silage samples, only cocci occurring in pairs, chains or groups and rods and yeast-like organisms were included; doubtful coccoid bodies occurring singly were not counted. It is clear, however, that even when such precautions are taken the results obtained in work of this nature can only be mere approximations.

A cultural examination of the material was also made with a view to estimating:

I. The numbers of micro-organisms and the approximate proportions of the different types in the samples.

For this purpose a solid medium which could be used for plate cultures was essential. In a series of preliminary tests the following plating media were compared:

(a) Dextrose nutrient agar.
(b) Grass extract agar.
(c) Dextrose peptone-silage extract agar.
(d) Dextrose peptone-autolysed yeast agar.
(e) Nutrient agar.

Samples of silage were plated quantitatively on these media and the plates were incubated, one half aerobically and the other half under anaerobic conditions. The results are shown in Table 1.

Table 1. Comparative tests of media for plating.

	Numbers of micro-organisms (millions per gram) developing									
	under aerobic conditions on					under anaerobic conditions on				
Silage Sample	Dextrose Agar	Grass Agar	Silage Agar	Yeast Agar	Nutrient Agar	Dextrose Agar	Grass Agar	Silage Agar	Yeast Agar	Nutrient Agar
1	228	271	172			281	337	188		
2		95					111			
3	1.4	2.2	2.0			2.6	1.5	0.9		
4	19	24	13			19.6		16.7		
5	21			31	13.5	44			60.5	12.5
6	0.4			0.5	0.05	0.06			0.4	0.1
7	0.4			0.4		0.3			0.3	
8	4.4			3.7		4.4			0.7	
9	13			15.5		9.5			12	
10	19			24.5		28			29	

The numbers of colonies which developed on the yeast and grass agars were frequently slightly larger than those which grew on dextrose agar but

the former figures rarely exceeded 150 per cent of the latter values. Owing to the fact that the media in question were dark in colour and difficult to prepare and standardise, they were discarded at an early date. While in certain cases the anaerobic plates yielded counts which were slightly higher than those obtained from plates incubated under aerobic conditions, the increases were neither sufficiently large nor sufficiently constant to justify the use for routine purposes of the special equipment required. Dextrose nutrient agar was, therefore, the plating medium selected and the plates were incubated aerobically at 30° C. for five days. Preliminary experiments indicated that the numbers of colonies reached a maximum within this period.

II. The presence and approximate numbers of putrefactive anaerobes.

For this purpose tubes of Rettger's (12) egg-meat medium were employed. They were incubated for 10 days at 37° C. and those which showed blackening of the constituents were noted.

III. The presence and approximate numbers of micro-organisms capable of producing gas from dextrose.

For this purpose dextrose agar shake cultures incubated at 37° C. for 10 days were employed.

Immediately after the films for the microscopic counts had been prepared, a series of dilutions was made from each silage suspension and duplicate (II. and III.) or quadruplicate (I.) one ml. quantities of suitable dilutions ranging from $^1/_{100}$ to $^1/_{10,000,000}$ were transferred to the media referred to.

From each of the plates which contained a countable number, a random selection of four colonies was made and the growths were transferred to dextrose agar and dextrose gelatin and to tubes of litmus milk. Films were prepared from the dextrose agar and stained by Gram's method; the morphology and Gram-staining reactions of the organisms were noted. In those cases in which difficulty was experienced in deciding whether an organism was a streptococcus or a rod, the microscopic examination of dextrose bouillon cultures frequently proved to be helpful. During a period of several months the gelatin and milk cultures were examined at intervals for liquefaction and for change of reaction and curdling respectively. About 700 strains were examined by the methods described and classified into the following groups:

(1) Lactobacilli (L)
(2) Streptococci (S)
(3) Yeast-like organisms (Y)
(4) Micrococci and Sarcinae (C)
(5) Other organisms (O).

As a result of these preliminary studies, strains representative of the more important types encountered were selected for more detailed studies. The results of the latter will be reported in a subsequent paper; they indicated that the error involved in the preliminary grouping was so small that it could be neglected. The approximate percentages of the various types found in each sample were calculated.

Chemical Analysis. The methods of analysis employed have been fully described elsewhere (14) but may be summarised as follows:

For the determination of pH and products of decomposition, an aqueous extract was prepared by shaking 100 gm. of the chopped silage with 200 ml. water for 3 to

Table 2. Results of Bacteriological

Sample No.	Series and Crop	Age (Wks.)	Micro-organisms[1]) (millions per gm.) Plate Method (P)	Microsc. Method (M)	Types of Micro-organisms[2]) (per cent) M/P	L	S	Y	C	O
6	Series 2: Beans, Peas, Vetches									
7										
8		18	175			100				
9		18	2			50		50		
12		22	2			6		88	6	
13		22	24			31		63		6
14		23		140						
15		23		1077						
16		24		7341						
17		24		3845						
18		25	60	2081	34.7	94			6	
19		25	103	2381	23.1	88			12	
22	Series 3: Ryegrass, Clover		425							100
23			348							100
25		2	2605	3577	1.4	12	76			12
26		2	2052	1521	0.7	19	69			12
27		3	461	1576	3.4	38	62			
28		3	765	1662	2.2	31	50			19
29		5	364	1915	5.3	94	6			
30		5	853	2704	3.2	56	44			
31		8	1338	2283	1.7	63		37		
32		8	234	1073	4.6	100				
33		11	742	3494	4.7	100				
34		11	498	2399	4.8	94		6		
35		14	730	2368	3.2	100				
36		14	312	2007	6.4	100				
57	Series 4: Ryegrass, Clover		356							100
58			613							100
59		2	1063	5744	5.4	31	25		44	
60		2	171	2297	13.4	25	12	19	12	32
61		4	410	3248	7.9	44	31		25	
62		4	173	3145	18.2	82		12	6	
63		6	468	2792	6.0	100				
64		6	414	2915	7.0	94		6		
65		8	162	1281	7.9	38		38	24	
66		8	466	1379	3.0	44			56	
67		10	425	3216	7.6	81			19	
68		10	385	4364	11.3	75			25	
69		12	1388	3876	2.8	44		6	50	
70		12	430	2595	6.0	12		6	82	

[1]) Dry matter basis. [2]) L = lactobacilli, S = streptococci, Y = yeasts,

4 hours. The pH value was determined on a portion of the extract by means of the quinhydrone electrode; the remainder was filtered. Sixty ml. of the filtrate were made up to 200 ml. with neutral 90 per cent alcohol and filtered. The total acid groups, free and combined, were titrated with standard alkali in a portion of this filtrate (A) made up to contain 85 per cent alcohol. An aliquot part of the filtrate (A) was then neutralised with the correct amount of alkali and distilled in steam for 6 minutes to obtain the volatile bases. The amino acids in the residue were determined by titration with standard acid and then the organic acids were liberated by the addition of a fur-

and Chemical Examination of Silage Samples.

pH	Dry Matter (per cent)	Nitrogen[1]) (per cent.) Total	NH_2-N (of Total)	NH_3-N (of Total)	$\frac{NH_2\text{-}N}{NH_3\text{-}N}$	Volatile Acid as Acetic[1])	Sample No.
	16.7	3.52	3.1	1.4	2.2	0.23	6
	16.7	3.49	3.4	1.7	2.0	0.31	7
3.4	12.0	2.83	7.1	6.0	1.2	1.31	8
3.3	17.0	3.15	6.4	3.8	1.7	0.94	9
3.2	18.6	3.09	6.8	3.6	1.9	0.80	12
3.4	18.3	2.85	8.4	6.3	1.3	1.40	13
3.0	14.9	3.36	6.2	3.0	2.1	1.07	14
2.9	15.0	3.26	5.2	3.4	1.6	1.09	15
3.5	16.0	2.70	11.1	5.2	2.1	1.26	16
3.4	16.0	3.42	9.4	3.5	2.7	1.01	17
3.6	17.3	3.09	16.5	7.5	2.2	1.34	18
3.5	16.2	3.07	12.4	5.9	2.1	1.16	19
	22.3	1.84	5.4	1.6	3.3	0.08	22
	23.5	1.83	4.4	1.6	2.7	0.06	23
4.5	19.0	2.02	20.8	15.8	1.3	1.06	25
4.5	19.5	2.24	20.5	13.8	1.5	0.98	26
4.0	21.8	2.19	19.6	7.3	2.7	1.06	27
4.3	20.5	2.14	17.3	7.9	2.2	0.96	28
4.1	27.7	2.18	13.3	6.4	2.1	0.91	29
3.6	27.6	2.08	11.1	3.8	2.9	0.58	30
3.6	14.9	2.21	14.5	5.0	2.9	1.42	31
3.6	13.6	2.10	18.6	4.3	4.3	1.01	32
3.8	12.4	1.97	17.3	7.1	2.4	2.03	33
3.7	13.0	1.95	20.5	6.7	3.1	1.97	34
3.7	13.6	1.87	18.2	7.5	2.4	1.85	35
3.7	12.9	2.02	18.3	5.9	3.1	2.06	36
							57
	21.0	2.11	3.3	0.9	4.8	0.10	58
3.5	22.3	2.06	7.3	2.9	2.5	0.41	59
3.7	20.2	2.26	7.5	1.8	4.3	0.39	60
3.3	20.9	2.29	10.5	3.1	3.4	0.76	61
3.5	20.1	2.24	9.4	2.7	3.5	0.92	62
3.8	18.9	2.18	21.1	9.6	2.2	1.93	63
3.4	20.4	2.18	10.1	2.8	3.7	1.00	64
3.1	21.2	2.34	8.1	2.1	3.8	0.74	65
3.1	20.8	2.21	9.1	1.8	5.0	0.61	66
3.6	20.4	2.31	16.9	6.1	2.8	1.79	67
3.5	20.5	2.32	15.1	6.0	2.5	1.79	68
3.5	20.5	2.26	10.6	3.1	3.4	1.05	69
4.1	18.5	2.38	16.8	9.2	1.8	2.69	70

C = micrococci and sarcinae, O = other organisms.

ther calculated amount of standard acid and the volatile acids distilled in steam. The lactic acid was determined only in composite samples of the filtrates (A). Excess alkali was added to the solution and the alcohol removed by evaporation. Proteins and carbohydrates were then removed by precipitation with copper sulphate and milk of lime and the lactic acid was determined directly by oxidation with permanganate in presence of manganous sulphate and phosphoric acid, distillation of the acetaldehyde into bisulphite and titration with iodine.

For the determination of dry matter and total nitrogen, the bulk of the sample

was dried at 100° C. and ground; total nitrogen was determined by the usual Kjeldahl procedure. Allowance was not made for the volatile acids and bases lost during drying and consequently the figures for dry matter and total nitrogen should be rather higher whilst the other results, which are given in terms of dry matter, should be rather lower. However, in view of the sampling errors, referred to later, such discrepancies are of minor importance.

Results.

The chemical and bacteriological data for series 2, 3 and 4 have been combined in Table 2; the results for series 1 have been omitted owing to the fact that at this stage the work was largely of a preliminary nature. In order to facilitate the comparison of the results, certain of the quantitative chemical data and the bacterial counts have been expressed in terms of oven-dry material.

In the majority of cases the samples possessed the odour and appearance of samples of good quality silage made by the low temperature fermentation method. They were, as a rule, light greenish in colour and exhibited an acid aroma with no trace of the smell of butyric acid. Only in a few instances was blackened material with a putrefactive odour encountered. The samples concerned were from barrels in series 3 which, owing to heavy rain, had become saturated with liquid; further evidence of putrefaction in these samples was obtained in the bacteriological examinations, the results of which will be described.

One of the most striking features of the quantitative work is the extreme variability of the results. This is obvious not only in the bacteriological but also in the chemical data. Successive samples from the same silo often vary enormously. The variations referred to are probably attributable partly to the difficulty of securing a thorough mixture of the acid with the unchopped fodder and partly to variations in the composition of the crops ensiled. When the acid is applied to the fodder, it generally causes bleaching. It is usual to apply the acid to layers of the material and it is a common experience to find that the outer portions of a treated layer are light in colour while the interior is dark green. Such irregularities in the distribution of the acid do not appear to become readily obliterated because, even in old silage, different portions of a sample taken from a comparatively restricted area often show marked variations in pH. Van Beynum and Pette (1) have also directed attention to this point; they record that in one instance a variation of pH from 3.07 to 3.93 was found in a vertical distance of 7 cm. In series 3 and 4 an attempt was made to eliminate these variations by ensiling the crop in barrels. It was believed that in this manner it would be possible to treat thinner layers of fodder and to secure more thorough compacting both of which precautions were expected to render the silage more uniform. The results, however, were disappointing. In series 4 a further modification was introduced with the same object; the acid was added to the fodder before the latter was placed in the barrels. Although the acid-fodder mixture was turned several times before the barrels were filled, the silage prepared in the fourth series was still very uneven in composition. This is indicated by differences exhibited by pairs of samples taken from each of the barrels; in many of the cases referred to these were obtained from points within a few inches of one another. Variation in the composition of the crop is indicated by differences in the percentages of dry matter and nitrogen in samples taken from closely adjacent points in a silo. Such

variations and those in pH value no doubt account for observed differences in the amounts of products of fermentation and proteolysis. Differences in the percentages of these products in adjacent samples could not always be related to differences in pH values and it was obvious that the composition of a sample must be regarded as a kind of average of many portions which might or might not be comparable according to the degree of uniformity of the crop and its absorption of the acid added to it. Sub-sampling in the laboratory could, of course, be done with care and precision on the chopped material so that duplicate analyses usually gave results in satisfactory agreement.

The variability of the silage samples is particularly well illustrated in the results of the plate counts. These vary from 2 millions to over 2500 millions per gram of oven-dried material. Even pairs of samples taken from points a few inches apart exhibit very large differences; for example, although samples 59 and 60 were taken from areas within 6 inches of one another No. 60 shows a plate count of 171 millions whereas the value for No. 59 is 1063 millions (about 6 times the former figure). In the case of samples in series 3 and 4 this tendency to variation completely masks the effect of ageing on the plate count. The influence of this factor is, however, more apparent when the samples from the barrels, which were from 2 to 14 weeks old, are compared with those from the silos the age of which was 18 to 25 weeks. In the latter the available plate counts rarely exceeded 100 millions whereas in the former they never fell below 150 millions per gram. The objection may be advanced that the materials ensiled in series 2 and in the barrels are not strictly comparable. Nevertheless there appears to be no reason to suppose that the protein-rich bean-pea-vetch mixture was a less suitable medium than the grass-clover crop or that micro-organisms would not survive in the former as long as in the latter. Further it may be noted that the data for series 1, in which the crop was a grass-clover mixture similar to that used in series 3 and 4 but ensiled for 26 to 30 weeks, were of the same order of magnitude as those for series 2.

The literature on the A. I. V. process contains few data on the plate counts of the silage. In alfalfa silage Peterson, Bohstedt, Bird and Beeson (11) recorded counts of 1.2 to 8 millions, while in the work of Peterson, Bird and Beeson (10) the values varied from 36 to 760 millions per gram. Peter (9), in an investigation of silage made from clover crops, observed plate counts on wort gelatin which in certain cases reached 250 millions; lactic acid bacteria enumerated in mash sometimes reached 500 millions per gram. With the exception of those of Peterson, Bird and Beeson, which are calculated on a dry matter basis, the data quoted refer to the undried silage; they are, therefore, in fair agreement with those obtained in the present investigation which refer to the oven-dried material.

The results of the microscopic counts are much less variable than those obtained by plating. This is probably in part due to the elimination of the influence of the age of the sample. It seems reasonable to assume that in a medium as acid as A. I. V. silage the cells of micro-organisms will remain stainable for long periods after death. The figures obtained by microscopic counting probably, therefore, represent approximations to the maximum counts reached in the samples. The ratio of the microscopic to the plate count is generally under 5.0 in series 3 and under 10.0 in series 4. Nos. 18

and 19 are the only other samples for which data for this ratio are available. The figures are much higher than those for series 3 and 4, a fact which tends to support the view that the low plate counts obtained in series 1 and 2 are at least partially due to the age of the silage.

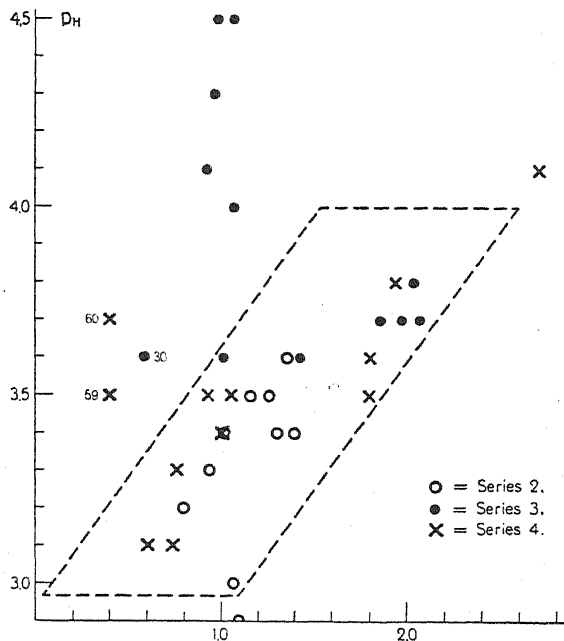
A study of the types of organisms obtained from the plates (Table 2) indicates that the microflora of the silage was entirely different from that of the material from which it was made. In Nos. 22 and 23 and 57 and 58 (samples of the mixture used in series 3 and 4 respectively) the majority of the organisms encountered were coloured rods which grew well on dextrose agar and were frequently Gram negative. No lactic acid bacteria were found in these samples. On the other hand the silage samples contained a microflora which consisted almost exclusively of true lactic acid bacteria. Lactobacilli were found in all the samples of silage examined. In the older material they frequently predominated and in certain cases constituted 100 per cent. of the flora. On the other hand streptococci occurred only in samples taken a short time after the crop was ensiled; they were never encountered in silage more than 5 weeks old. The occurrence of yeast-like organisms was frequently rather erratic. The available data do not clearly indicate the nature of the factors which favour their growth in A. I. V. silage although it may be noted that the samples in which they make up a high percentage of the microflora frequently show low pH values. Considerable numbers of micrococci and sarcinae were found in samples belonging to series 4. They were also encountered in series 1 and 2 but they were not detected in series 3. These results are in general agreement with those of Peter (9) and Ruschmann (13) who found that the predominant organisms in silage of this type were lactic acid bacteria. Virtanen (18) stated that the chief micro-organisms encountered in A. I. V. silage were lactobacilli; betacocci and yeasts were also found. The presence of cocci, short rods and yeasts in silage, the pH of which was below 3.0, was recorded by Volbehr (19); slender rods were observed by this worker in samples whose pH exceeded 3.0.

The detailed results of the counts in egg-meat medium and in dextrose agar shake cultures have not been included. In egg-meat the only samples whith yielded evidence of blackening in cultures inoculated with quantities less than $^1/_{100}$ gram were Nos. 31 to 36. These samples had become saturated wich liquid owing to the penetration of surface water into the barrels; certain of the samples were black in colour and possessed a putrefactive odour. It should be noted, however, that although there was evidence of putrefaction, no putrefactive bacteria developed upon the plates; the microflora capable of developing under aerobic conditions consisted almost entirely of lactobacilli. The putrefactive changes produced in these samples appear, therefore, to have been due exclusively to anaerobes. None of the normal samples contained putrefactive bacteria in appreciable numbers. The majority of the silage samples failed to produce gas when quantities less than $^1/_{100}$ gram were employed for the inoculation of dextrose agar shake cultures. The exceptions were Nos. 25 to 28, 60 and 69. The fact that the pH of samples 25 to 28 was 4.0 or over may account for their behaviour. On the other hand these samples and also No. 60 were all less than one month old when examined. This suggests that the gas-producing organisms may have resisted the treatment to which the grass-clover mixture was subjected. In this connection it is worthy of note that the mixture employed in series 4

contained gas-producing organisms in $^{1}/_{10,000}$ gm. The gas-forming organisms isolated from the silage samples referred to proved to be Gram-negative, short rods capable of producing a slow acidification (accompanied by slight gas formation in certain cases) in bile-salt lactose broth.

No attempt was made to determine the individual volatile acids which occurred in the silage samples, the total quantity being calculated each time as acetic acid[1]). Various investigators have examined samples of A. I. V. silage for butyric acid and found only small amounts or none at all below pH 4.0. The formation of acetic acid has been attributed to coliform organisms, true lactic acid bacteria and yeasts. Acetic acid is invariably found in spite of acidification to pH values below 4.0 although in much smaller quantities than in ordinary silage.

Fig. 1. Per cent acetic acid.

In the present investigation it will be seen that the results for acetic acid lie between 0.4 and 2.1 for all samples of pH below 4.0 and are in good accord with the figures obtained by other workers. For example, Virtanen (17) found 0.2 to 0.3, Steiner (15) 0.07 to 0.50, van Beynum and Pette (1) 0.12 to 0.63, Mertins (8) 0.06 to 0.60 and Peter (9) 0.20 to 0.60, all as percentages of fresh silage, whilst Watson and Ferguson (16) found 1.4 to 2.6 and Peterson et al (10) 2.8 to 4.0 as percentages of the dry matter. For samples of pH between 3.0 and 4.0, it will be observed that there is a good correlation between the acetic acid and pH value (Fig. 1); all the points with the exception of those for samples 30, 59 and 60 lie within the area enclosed by the dotted line. It is not possible to account for sample 30, but samples 59 and 60 were taken only two weeks after ensiling and it may be that the silage had not reached an equilibrium. These two samples were also abnormal in respect to nitrogen figures, as shown below. Mertins (8) observed that acetic acid formation was sharply eliminated at pH 3.25 and Peter (9) found that it was practically eliminated between pH 2.5 and 3.0. On the other hand Gerlach (4), using the Fingerling method of acidification, found from 0.1 to 0.3

[1]) This simplification seemed to be justified in the study of the strains of microorganisms isolated from the samples. In the determination of acids formed on incubation, the total volatile acids were subjected to a second distillation but in no case was any acid other than acetic acid found.

per cent. acetic acid at pH values of about 2.0. There is no indication in the present results of a critical pH value for acetic acid formation and this falls into line with the observations of Watson and Ferguson (16).

A figure for the percentage of non-volatile organic acids may be obtained in each case by subtracting the sum of amino acids and volatile acids from the total titratable acidity. In the case of ordinary silage, this "residual acidity" calculated as lactic acid may be regarded as a rough guide to the amount of lactic acid actually present but, in the case of silage made by the addition of mineral acid, there may be a very large discrepancy owing to the action of the mineral acid upon salts in the plant sap. Peter (9) and Mertins (8) sometimes found the lactic acid to be more than the "residual acidity", but generally it is much less. Watson and Ferguson (16), for example, found that on the average it was only about half the "residual acidity" calculated as lactic acid. In the present investigation, the lactic acid was determined directly on only a few composite extracts and, although in one instance it was rather more than the corresponding average "residual acidity", calculated as lactic acid (6.84 per cent as against 6.39), it was usually much less. The following ratios of lactic acid to "residual" indicate the danger of estimating the lactic acid without a direct determination: 2.56 : 4.71 (series 1), 4.60 : 9.12 (series 2), 5.11 : 6.92 (series 3), and 2.79 : 4.75 (series 4). They vary from about 50 to 74 per cent. For the fresh crops, the corresponding values were 0.84 : 4.21 for series 2 and 0.57 : 0.79 for series 3 and 4 or 20 and 72 per cent. respectively.

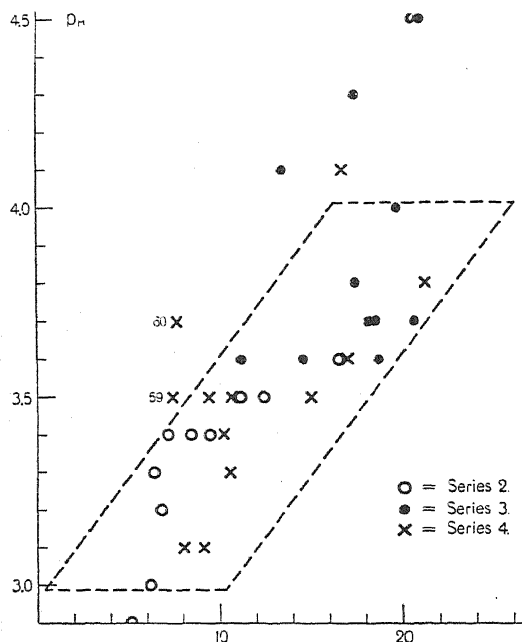



Fig. 2. Amino-N as per cent total N.

The values for lactic acid found by other investigators show considerable variation. In terms of fresh silage, Virtanen (17) obtained a range of 0.05 to 1.05, Watson and Ferguson (16) 0.3 to 1.17, Steiner (15) 0.28 to 1,44. van Beynum and Pette (1) 0.52 to 1.43, Mertins (8) 0.05 to 1.31 and Peter (9) 0.60 to 2.2. Peterson et al (10) found about 2.3 per cent. lactic acid in terms of the dry matter. The range over all these results is of the order 0.2 to about 7 or 8 per cent. of the dry matter compared with 2.6 to 6.8 in the present case. It is noteworthy that almost invariably the ratio of lactic acid to acetic acid has been found to be greater than unity and usually falls between 2 and 4.

In order to provide an estimate of the extent and nature of protein

breakdown, the volatile bases and amino acids have been calculated as nitrogen and these nitrogen figures calculated as a percentage of the total nitrogen. In the case of the fresh crops, the NH_3-N varied from 0.9 to 1.7 per cent. of the total N and the NH_2-N from 3.1 to 5.4 per cent.; the corresponding figures for the silages were invariably much greater.

The figures for NH_2-N lie between 5 and 21 per cent. and are of the same order as those obtained by other investigators (Virtanen (17) 13 per cent., Watson and Ferguson (16) 15.8—17.5 per cent., Peterson et al. (10, 11) 14—30 per cent.). The distribution of points in Fig. 2 illustrates the correlation between NH_2-N and degree of acidity. The correlation is disturbed chiefly by samples having a pH value above 4.0 and by the two samples 59 and 60 which were taken only two weeks after ensiling. It would not be safe to draw further conclusions from the limited data available, but it is conceivable that if the acidity were too great there would be an increase in amino nitrogen as a result of acid hydrolysis.

The NH_3-N results lie between 1.8 and 9.6 per cent for pH values below 4.0 and there is again a close correlation between acidity and volatile base (Fig. 3). Sample 60 again falls outside the general agreement. It will be observed that the samples of which the pH is above 4.0 show increasing amounts of NH_3-N, in contrast to the corresponding NH_2-N figures, probably as a result of the breakdown of the amino acids in these samples. The NH_3-N results, as percentage of total N, found by other investigators are as follows: Virtanen (17) 1.9 (corrected for NH_3 in fresh material), Watson and Ferguson (16) 6.0 to 6.5, Peterson et al. (10, 11) 1.2 to 6.7, Steiner (15) 1.4 to 7.3 and, taking into consideration the different methods of analysis employed, display a reasonable degree of uniformity. There is no doubt that the production of volatile base is depressed according to the degree of acidification but the data presented are insufficient to specify the pH value below which ammonia is not produced. It is significant that the scatter diagram (Fig. 4) shows only a poor correlation between pH value and the ratio amino acids to volatile bases, but the ratio tends to decrease above pH values of 4.0. The same general conclusions were reached by

Fig. 3. Ammonia-N as per cent total N.

Watson and Ferguson (16) in an examination of about 140 samples of acidified fodders. By making determinations of "true" protein, before and after ensiling, Mertins (8) estimated that the breakdown of protein was 0.5 to 9.8 per cent. for clover and 14 to 39 per cent. for marrow stem kale and that the critical point lay about pH 3.5. Peter (9) estimated the protein breakdown to be from 10 to 23 per cent.

Discussion.

The data presented in this paper leave no doubt regarding the possibility of microbiological activity in samples of green forage acidified to average pH values between 3.0 and 4.0 by means of mineral acids. In addition to the evidence furnished by the presence in the silage of products of fermentation and proteolysis in considerable amount, the microbiological data indicate that a pronounced multiplication of bacteria and, in some samples, also of yeasts has taken place. In the silage, plate counts several times those found in the untreated fodder were recorded, while direct counts of the microflora of the former generally reached several thousands of millions per gram of oven-dried material. Further evidence of the activity of the microflora is revealed in the complete change which took place in the types represented. While lactic acid bacteria predominated in the silage, organisms of this type could not be detected in the samples of fresh fodder which were examined. The majority of the micro-organisms present in the latter were Gram-negative coloured rods — a type which was not found in the silage. Observations such as those referred to establish the fact that acidification of fodder to the point at which samples show mean pH values between 3.0 and 4.0 does not completely inhibit the growth of bacteria and other micro-organisms.

Fig. 4. Ratio $\frac{\text{amino-N}}{\text{ammonia-N}}$.

The variation in the pH of the silage raises some doubt as to whether the strains of micro-organisms isolated from samples showing an average pH between 3.0 and 4.0 had in fact been growing at pH values between these limits in the silage. The possibility exists that the organisms concerned had proliferated only in those portions of the fodder which were less acid than pH 4.0. It is impossible to state with certainty whether or not this was the case. It can, however, be asserted that in artificial media almost all the strains of lactic acid bacteria isolated were capable of lowering the pH from approximately 4.75 to values under 4.0, that many could initiate

growth at a pH of about 3.75 and that some were capable of developing at a pH of 3.50. It appears improbable, therefore, that in the silage the growth of these micro-organisms was restricted to areas in which the pH exceeded 4.0.

The high proportion of true lactic acid bacteria in the microflora of samples of A. I. V. silage has already been referred to; the older samples sometimes contained lactobacilli almost exclusively. In the composite samples of silage extracts examined, from 2.6 to 6.8 per cent. of lactic acid was found; these figures are from 5 to 12 times those recorded for the fresh fodder. On the other hand the percentage of acetic acid in the silage only once exceeded 2.1. There is evidence, therefore, that the main microbiological change which takes place in silage of this type is a lactic acid fermentation. This view is not necessarily inconsistent with the occurrence of volatile acids in the silage; it will be shown in a subsequent paper that the main types of lactic acid bacteria found in the samples examined are capable of forming such products. Kirsch (7) and Ruschmann (13) hold the view that silage made by the addition of mineral acid undergoes a cold fermentation. Certainly it appears that the A. I. V. and cold fermentation processes have this in common that the predominant change which occurs in them is the formation of lactic acid.

As mentioned earlier, the distillate comprising total volatile acids was not further analysed in the examination of the silage extracts but simply calculated as acetic acid. It is possible that some butyric acid was present in the less acid samples (e. g. series 3) but a more complete study of the acids produced by pure cultures isolated from silage samples the pH of which was between 3.0 and 4.0 showed that the volatile fraction always consisted entirely of acetic acid. These results will be reported fully in a subsequent paper.

Although the variability of the results renders it difficult to reach definite conclusions regarding the rate of fermentation, certain of the data suggest that most of the bacterial activity takes place within a short period after the addition of the acid. In series 3 and 4 the samples examined two weeks after acidification showed plate counts which were among the highest recorded and, in both cases, the maximum microscopic counts for the series were obtained from these samples. On the other hand the values for the products of decomposition of samples 59 and 60 were much lower than those for other samples of the same pH, which appears to show that biochemical changes were not completed in two weeks. The fact that after three weeks, representatives of the "other bacteria" could no longer be detected, however, suggests that the lactic acid fermentation became predominant at a very early stage. In this connection it may be noted that Peter found that fermentation was complete in 20 to 30 days.

Reference to Table 2 shows that for the samples examined the total nitrogen figures lay between 2.8 and 3.5 per cent. in the leguminous series 2 but were only about 2 per cent. in the series of grass-clover mixtures. It will be observed in Figs. 1, 2 and 3 that the silage from the high-protein material tended to contain rather more volatile base and more acetic acid and rather less amino acid than the other ensiled crops of the same pH value, but the differences do not affect to any extent the general relationships existing between pH value and decomposition products. It may be said, therefore, that the addition of mineral acid has been quite successful in preserving a crop containing over 3 per cent. of nitrogen or about 20 per cent.

of crude protein — a crop which would be difficult to ensile satisfactorily by ordinary methods.

It is obvious from a comparison of the nitrogen figures for the fresh material and silage that the addition of acid has not prevented proteolysis for both amino-nitrogen and ammonia-nitrogen are considerably increased but, without exception, the ratio of NH_2-N to NH_3-N is greater than unity and in fact varies from 1.2 to 5.0. This is of outstanding importance from the point of view of feeding, because the hydrolysis of protein to amino acids simply amounts to a pre-digestion of the protein, whereas a breakdown to ammonia and organic bases not only reduces the food value of the crop but renders it less palatable and possibly dangerous. In this respect it seems that an examination of the decomposition products is a much more useful guide to the value of the silage than an estimation of the change in "true-protein".

Summary.

1. Samples of silage prepared by the addition of mineral acids to unchopped green fodder exhibit marked variations in chemical composition, pH and microbiological content.

2. Acidification of unchopped fodder crops with mineral acids to points at which samples show mean pH values between 3.0 and 4.0 does not completely inhibit the growth of micro-organisms.

3. The predominant fermentative change which occurs in silage of this type is the formation of lactic acid.

4. Lactic acid bacteria isolated from silage samples, the mean pH of which is between 3.0 and 4.0, are capable of growing in artificial media between these limits.

5. Fodder crops containing over 3 per cent. of nitrogen or about 20 per cent. of crude protein can be successfully preserved by the addition of sufficient mineral acid to lower the mean pH to values between 3.0 and 4.0.

Literature.

1. Beynum, J. van und Pette, J. W., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 413—433. — 2. Breed, R. S., and Brew, J. D., New York Agric. Expt. Sta. Tech. Bul. No. 49. 1916. p. 1—31. — 3. Fingerling, G., Ber. 3 d. Vereins z. Förderung d. Futterkonservierung. Berlin 1926, quoted by Wiegner. (Verhandlungsber. d. III. Grünland-Kongr. 1934. S. 363.) — 4. Gerlach, M., Die Tierernährung. Bd. 1. 1930. S. 179—193. — 5. Hildebrandt, H., Vortr. a. d. 9. Mitgliederversammlung d. Vereins z. Förderung d. Futterkonservierung. Berlin 1932. — 6. Kirsch, W. und Hildebrandt, H., Dtsch. Landw. Presse. Jahrg. 59. 1932. S. 135, 148, 186. — 7. Kirsch, W., Vortr. a. d. 9. Mitgliederversammlung d. Vereins z. Förderung d. Futterkonservierung. Berlin 1932. — 8. Mertins, S., Ztschr. f. Züchtung. B. Bd. 32. 1935. S. 109—132. — 9. Peter, H., Ztschr. f. Züchtung. B. Bd. 34. 1936. S. 85—103. — 10. Peterson, W. H., Bird, H. R., and Beeson, W. M., Journ. Dairy Sci. Vol. 20. 1937. p. 611—623. — 11. Peterson, W. H., Bohstedt, G., Bird, H. R., and Beeson, W. M., Journ. Dairy Sci. Vol. 18. 1935. p. 63—78. — 12. Rettger, L. F., Journ. Biol. Chem. Vol. 2. 1906. p. 71—86. — 13. Ruschmann, G., Vortr. a. d. 9. Mitgliederversammlung d. Vereins z. Förderung d. Futterkonservierung. Berlin 1932. — 14. Smith, A. M., The Analyst. Vol. 63. 1938. p. 777—781. — 15. Steiner, W., Die Landw. Versuchs-Stat. Bd. 124. 1935. S. 1—86. — 16. Watson, S. J., and Ferguson, W. S., Journ. Agric. Sci. Vol. 27. 1937. p. 1—42. — 17. Virtanen, A. I., Cattle Fodder and Human Nutrition. 1938. p. 78—102 (Cambridge Univ. Press). — 18. Virtanen, A. I., Zentralbl. f. Bakt., Abt. II. Bd. 95. 1937. S. 472—477. — 19. Volbehr, K., Inaug.-Diss. Leipzig 1929. S. 1—48.

Die Wuchsstoff-Frage in der Mikrobiologie[1].

[Aus der mikrobiologischen Abteilung des Institutes für Biochemische Technologie an der Technischen Hochschule in Wien.]

Von **Alexander Janke.**

Inhaltsübersicht.

A. Allgemeines über die Wirkstoffe.

Unter Wirkstoffen sind Substanzen zu verstehen, die schon in so geringer Menge wirken, daß sie als Material für den Zellaufbau oder zur Energielieferung nicht in Frage kommen; sie sind entweder anorganischer oder organischer Natur und wirken als Reizstoffe bzw. als Biokatalysatoren [Mittasch (289), Euler (97)]. Eine scharfe Trennung gegenüber den Nährstoffen ist freilich nicht immer möglich [Kuhn (234)], wie sich dies im Laufe unserer Betrachtungen ergeben wird.

Die anorganischen Wirkstoffe dienen als Regulatoren und Aktivatoren, und zwar zur Regelung physikalisch-chemischer Zellvorgänge, wie Quellung, Permeabilität usw., sowie zur Aktivierung des anaeroben (S, Te) und aeroben (Fe, Mn, Cu) Stoffwechsels [Kollath (223, 224 a)]; im letzteren Falle kommt ihnen der Charakter von Hilfsstoffen der enzymatischen Umsetzungen zu, was auch für das Mg zutrifft.

Die organischen Wirkstoffe oder Ergine [Ammon und Dirscherl (8)] sind entweder:

a) **Enzyme,** d. s. Katalysatoren, die auf chemische Reaktionen — also unbelebte Systeme — beschleunigend, aber auch bahnend wirken, und zwar in streng spezifischer Weise, oder

b) **Ergone,** d. s. Reizstoffe, die nur auf belebte Systeme — also über das lebende Plasma — wirken und die Vitamine und Hormone umfassen

[1]) Wegen Raumbeschränkung war es nicht möglich, die vorliegende umfangreiche Literatur lückenlos zu zitieren; es wurde daher vor allem getrachtet, neuere Arbeiten anzuführen, in denen das ältere Schrifttum verarbeitet ist.

Eine ergänzende Literatur-Übersicht — vor allem auf dem Gebiete der bakteriellen Wuchsstoffe — ist bei St. A. Koser und F. Saunders (Bact. Rev. Vol. 2. 1938. p. 100) zu finden. Außer dieser zusammenfassenden Darstellung liegt ferner noch eine solche in französischer Sprache von A. Lwoff (Ann. Inst. Pasteur T. 61. 1938. p. 580) vor.

[Euler (96)]. Eine Abgrenzung der beiden letztgenannten Stoffgruppen voneinander scheint nur vom Standpunkt des belebten Systems aus möglich, das durch sie beeinflußt wird: ist dieses System zur Totalsynthese der genannten Stoffe befähigt, so spricht man von einer Hormon-, im gegenteiligen Fall von einer Vitamin-Wirkung. In neuerer Zeit wird auch diesen Reizstoffen der Charakter von Katalysatoren beigelegt [Mittasch (289)]. Euler (97) rechnet nunmehr auch die Co-Enzyme zu den Ergonen, zumal sich ergeben hat, daß manche Ergone durch Verankerung an einem Protein-Träger den Charakter von Enzymen erlangen (Ergozyme). Man nimmt heute nämlich an, daß das komplette System, das Holo- oder Pan-Enzym, sich zumeist in einem Dissoziationsgleichgewicht mit seinen Komponenten, dem wirkungsspezifischen Agon oder Co-Enzym und dem substratspezifischen Pheron oder Apo-Enzym befindet:

Holo- (oder Pan-) Enzym $\rightleftarrows$ Co-Enzym (oder Agon) + Apo-Enzym (oder Pheron).

Vom Standpunkte der Mikrobiologie aus erscheint es wohl am zweckmäßigsten, bei den Mikroben die Unterscheidung zwischen Vitaminen und Hormonen ganz fallen zu lassen und nur von Mikroben-Ergonen zu sprechen, für die — im Gegensatz zu den Enzymen — die Wirkung auf das lebende Plasma charakteristisch ist. Es muß jedoch besonders darauf hingewiesen werden, daß der Wuchsstoff-Begriff, wie er von manchen Forschern gebraucht wird, umfassender ist als der hier entwickelte Ergon-Begriff. Es werden nämlich unter Wuchsstoffen z. T. Faktoren verstanden, die anscheinend nicht unmittelbar in das Lebendgeschehen der Zelle eingreifen, sondern vielmehr nur eine Milieuänderung herbeiführen, so z. B. eine bloße Verschiebung des Redoxpotentials bewirken.

Für Wuchsstoffe aller Klassen ist auch die allgemeine Bezeichnung Auxone vorgeschlagen worden, wobei die natürlich vorkommenden als Autoauxone den künstlich dargestellten Heteroauxonen gegenübergestellt werden [Link, Wilcox und Link (260)].

Die Wirkung der Wuchsstoffe kann sich beziehen auf das Streckungswachstum, den Plasmawuchs und die Zellteilung, wobei die letztere wahrscheinlich nur eine Folge des Plasmawuchses ist.

Außer den organischen Wirkstoffen, die sich als Wuchsstoffe betätigen, sind auch noch solche bekannt, die gewisse chemische Leistungen, wie Atmung, Gärungen, Giftbildung u. dgl. m. beeinflussen. Sofern diese Faktoren auf das Zellwachstum selbst nicht wirken, bleiben sie außerhalb des Rahmens unserer Betrachtung; dieser Fall wird vor allem dann vorliegen, wenn solche Leistungsänderungen unter Verhältnissen beobachtet wurden, die jegliches Zellwachstum sicher ausschließen. Wo diese Voraussetzung nicht zutrifft, besteht immerhin die Möglichkeit, daß die beobachtete Leistungssteigerung in einer eingetretenen Vermehrung der wirksamen Zellen ihren Grund hat.

Eine übersichtliche Gruppierung der Mikrobenwuchsstoffe nach ihrem chemischen Bau oder nach dem Mechanismus ihrer Wirkung kann zur Zeit noch nicht gegeben werden. Deshalb sollen zunächst die Vitamine und Zoohormone, ferner die Pyridin-, Sulfhydril- und Häminsysteme sowie die Wuchsstoffe der A-Gruppe in ihrer Wirkung als Mikroben-Ergone besprochen werden, daran reihen sich die für die einzelnen Mikrobengruppen spezifischen Wuchsstoffe, so für die Sproßpilze, die Schimmelpilze und die Bakterien. Eine Betrachtung über den derzeitigen Stand unserer Kenntnisse vom Wirkungsmechanismus der Mikrobenwuchsstoffe soll den Abschluß bilden.

B. Vitamine als Mikroben-Ergone.

Betreffend Vitamine im allgemeinen sei auf die zusammenfassenden Darstellungen von Bredereck und Mittag (45) sowie von Brockmann und Maier (46) hingewiesen; über die Methodik unterrichtet das Werk von Bomskov (33).

1. Die fettlöslichen Vitamine.

a) Das Vitamin A.

Das Vitamin A entsteht im tierischen Organismus aus Carotinoiden, die einen β-Iononring enthalten.

Die **Carotinoide** oder **Lipochrome,** bezüglich welcher man bei Lederer (247), Zechmeister (533) und Willstaedt (523) eingehenderes in Erfahrung bringen kann, sind gelbe, orange oder rote Farbstoffe, die eine größere Zahl konjugierter Doppelbindungen enthalten (Polyene); diese gehören Isopren-Resten an, außer denen sich noch ein Iononring vorfindet [Karrer (181)]. Der wichtigste Farbstoff dieser Gruppe ist das Carotin, das ein Gemisch von 3 isomeren Kohlenwasserstoffen, dem α-, β- und γ-Carotin vorstellt [Kuhn und Lederer (237), Karrer und Mitarbeiter (183)]. Von diesen Isomeren enthält die β-Form zwei β-Iononringe, das α- und das γ-Carotin nur je einen. Da nun das Vitamin A ebenfalls einen β-Iononring aufweist, kann das β-Carotin gänzlich in jenes übergehen, während von den beiden anderen Carotinen nur das halbe Molekül hierfür in Frage kommt. Dieser Übergang findet im tierischen Organismus statt; als Provitamine A kommen außer den 3 genannten Carotinen auch noch andere Carotinoide, die den β-Iononring enthalten, in Betracht.

```
H3C   CH3
   \ /
    C
   / \
H2C   C — CH = CH — C = CH — CH = CH — C = CH — CH2OH
 |    ‖             |                  |
H2C   C             CH3                CH3
   \ / \
    C   CH3
    H2
```

Vitamin A.

Das **Vitamin A** findet sich vor allem im tierischen Organismus, und zwar gespeichert im Milch-, Eidotter- und Körperfett, ferner in der Leber (Lebertran); die Provitamine (Carotine) hingegen kommen insbesondere in den Pflanzen vor.

Was das Auftreten dieser Ergone in den Mikroorganismen anbelangt, so ist zumeist nicht untersucht worden, ob das Vitamin A selbst oder aber Provitamine vorliegen, da ja letztere im üblichen Tierversuch Vitamin-A-Wirkung zeigen. Nach Baumann, Steenbock, Ingraham und Fred (18) fanden sich in den von ihnen untersuchten Mikroben nur Carotine vor, Vitamin A selbst war spektroskopisch nicht nachzuweisen.

Vitamin A-Wirkung im Tierversuch findet sich vor allem bei Algen; so wurde eine solche nachgewiesen durch Coward (65) bei Chlorella, durch Jameson und Mitarbeiter (176) und Ahmad (3) bei der Diatomee Nitschia closterium und durch Drummond und Gunther (81) im Phytoplankton des Meeres, während das Zooplankton keine Wirkung zeigte. Ferner konnten Gunderson und Skinner (135) in einer Chlorococcus-Art bei Aufzucht unter Lichtabschluß in synthetischer Nährflüssigkeit mit Dextrose als alleiniger Energiequelle neben den Vitaminen B und G viel Vitamin bzw. Provitamin A antreffen. Dieses ließ sich zufolge Lederer (247 a) in der Grünalge Trentepohlia aurea und zufolge Ellis, Palmer und Barnum (93) auch in niederen Flechten nachweisen.

Bei Sproßpilzen finden sich in roten Torulopsidaceen Carotinoide vor, wie dies Lederer (246, 247 a), Fink und Zenger (111) sowie Fromageot und Tchang (114 b) erwiesen haben. Über die physiologische Wirksamkeit dieser Pigmente verdanken wir Tchang und Chaix (480 a) experimentelle Untersuchungen. Mit Bierhefe-Fett konnten Hume, Smith und Smedley-Maclean (168) keine Vitamin A-Wirkung erzielen.

Von den Speisepilzen enthalten nach Untersuchungen von Scheunert und Reschke (389) nur die Pfifferlinge erhebliche Mengen von Provitamin A. Neben anderen Carotinoiden konnte β-Carotin auch in einigen Basidiomyceten und Myxomyceten aufgefunden werden (247 a).

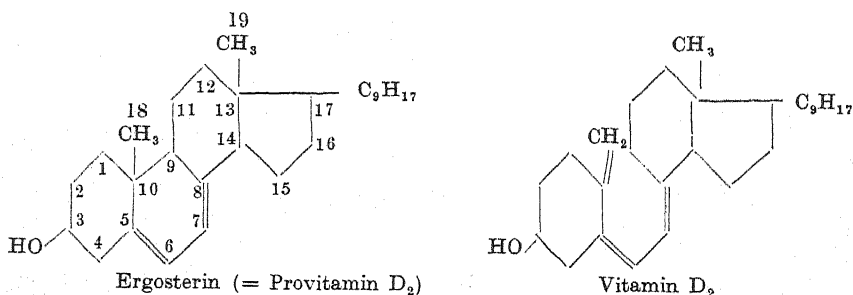
Unter den Bakterien sind carotinoide Farbstoffe ziemlich häufig und zufolge Ingraham und Baumann (175) annähernd schon an der Färbung zu erkennen; die höchste durch diese Forscher festgestellte Menge betrug 0,58 mg je Gramm Trockensubstanz. In dem von Mycobacterium phlei gebildeten Pigment konnten Chargaff (58) sowie Ingraham und Steenbock (175 a) neben verwandten Substanzen β-Carotin nachweisen; ferner wurde dieses Provitamin in Sarcina aurantiaca gefunden (365 a, 58). Auch in gelben Corynebakterien war durch Skinner und Gunderson (448) im Rattenversuch eine Vitamin A-Wirkung zu erkennen; zufolge Baumann und Mitarbeiter (18) rührt sie von Carotin her.

Die Wirkung des Vitamins A auf den tierischen Organismus äußert sich in der Verhinderung der Verhornung von Epithelien; so kommt es bei A-Mangel zu Xerophthalmie und Keratomalacie des Auges. Die diesem Vitamin auch zugesprochene fördernde Wirkung auf das Wachstum junger Tiere wird durch Kollath (222) bezweifelt, der demselben vielmehr einen Einfluß auf die Bildung und Wegsammachung der Leitungsbahnen zuschreibt und für die Wachstumswirkung selbst seinen HG-Faktor verantwortlich macht.

Was die Wirkung des Vitamins A auf Mikroorganismen anbelangt, so liegt bloß eine Untersuchung von Tochinai und Terui (489) an vier parasitischen Pilzen vor, wobei sich im wesentlichen eine Hemmung ergeben hat, die aber möglicherweise auch in einer D-Hypervitaminose ihren Grund haben konnte.

b) Die antirachitischen Vitamine [vgl. Brockmann (45a)].

Diese entstehen durch UV-Bestrahlung von Sterinen, die sich alle vom Cyclopentano-perhydrophenanthren als Grundkohlenwasserstoff herleiten. Aus dem Ergosterin wird so das Vitamin D_2 und aus dem 7-Dehydro-cholesterin das Vitamin D_3 erhalten, das vor allem im Lebertran vorkommt und eine stärkere Wirkung als D_2 aufweist; vom 22-Dihydro-ergosterin gelangt man durch UV-Bestrahlung zum Vitamin D_4.

Ergosterin (= Provitamin D_2)

Vitamin D_2

Antirachitische Vitamine konnten durch Belloc, Fabre und Simonnet (20) in einer Planktonprobe nachgewiesen werden; im allgemeinen aber scheint das Plankton keine wesentlicheren Mengen an jenen zu enthalten (249). Reichlich hingegen finden sich diese Vitamine zufolge Scheunert und Reschke (389) in Pilzen, sofern diese im Freien — also unter Lichteinfluß — gewachsen sind. Die Untersuchungen von Scheunert, Schieblich und Reschke (397) ergaben für Hel-

vella esculenta mit 1,25 I. E. je Gramm Frischsubstanz die höchsten Werte; für Psalliota campestris wurden 0,63 I. E. erhalten, sofern die Pilze aus Freiland stammten, während im Keller gezogene Exemplare bloß den dritten Teil hiervon lieferten.

Wesentlich verbreiteter sind die Provitamine; so ist vor allem das Ergosterin reichlich in Hefe anzutreffen, aus der es nach Windaus und Großkopf (524) oder — unter Umgehung der Ätherextraktion — nach Heiduschka und Lindner (153) gewonnen werden kann. Nach den Untersuchungen von Bills (26 a) sowie jenen von Castille und Ruppol (56) unterliegt der Gehalt der verschiedenen Hefen an Ergosterin starken Schwankungen und ist weniger von der Hefenrasse als vielmehr vom Nährboden abhängig; die geringste Menge (0,31% bis 0,5%) sollen Futterhefen enthalten (358 a). Auch in Schimmelpilzen finden sich durch UV-Licht aktivierbare Sterine vor, die zufolge Takata (470) sowie Pruess und Mitarbeiter (359) im Myzel von Asp. oryzae und nach Sumi (460) auch in den Sporen dieses Pilzes besonders reichlich enthalten sind. Solche Provitamine konnten ferner durch Blix und Rydin (27) in der Renntierflechte und durch Greaves (128) auch in Azotobacter chroococcum nachgewiesen werden.

In Versuchen mit getrockneter Bierhefe stellten Schübel und Gehlen (437) fest, daß die Bestrahlung mit UV-Licht der Wellenlänge von etwa 300 mμ das Optimum an rachitischen Vitaminen liefert.

Über eine Bedeutung der Vitamine bzw. Provitamine der D-Gruppe für das Leben der Mikroorganismen ist nichts Näheres bekannt.

Nur Cailleau (54) ermittelte in Versuchen über die Wuchsstoffwirkung von Sterinen und Sterinderivaten auf den Flagellaten Trichomonas columbae, daß Cholestanol, Sistostanol, cis-Cholestanol-3,4-diol sowie Cholesterinazetat wirksam sind; hierbei ergab sich auch, daß eine OH- oder CO-Gruppe in 6-Stellung die Aktivität beeinträchtigt.

c) Das Vitamin K (antihämorrhagisches Vitamin).

Mangel an Vitamin K führt beim Huhn zum Auftreten von Hämorrhagien. Dieses Vitamin ist im Unverseifbaren der Fette enthalten, aber nicht zu den Sterinen zu rechnen; es ist bei alkalischer Reaktion sehr unbeständig.

Durch Almquist und Mitarbeiter (6) konnte dieses Vitamin in einer Reihe von Bakterien nachgewiesen werden, in denen es offenbar als Stoffwechselprodukt entsteht; Hefe enthält davon wenig oder gar nichts.

2. Die Vitamine der B-Gruppe (33, 45, 46, 243).

a) Das Vitamin B_1 [vgl. Williams (521)].

α) Vorkommen, chemische Zusammensetzung und Eigenschaften.

Das Vitamin B_1, auch Aneurin [Jansen (178)] oder Thiamin [Williams (520)] genannt, ist in der Tier- und Pflanzenwelt weit verbreitet. Es konnte auch in vielen Hefen und Schimmelpilzen nachgewiesen werden, so durch Schopfer und Jung (428) sowie durch Scheunert und Schieblich (394) in Aspergillus-Arten. Brauerhefe soll den letztgenannten Forschern (393) zufolge 2—3mal soviel davon als Bäckerhefe enthalten. Der Unterschied kann aber auch bis zum 8fachen betragen; so fanden Pavcek, Peterson und Elvehjem (351) im Hühnertest je Gramm Trockensubstanz bei gewöhnlicher Bäckerhefe 5 I. E. (Internationale Einheiten), bei Bierhefe hingegen bis zu 40 I. E. an Thiamin [vgl. auch (279)]. Es ist daher verständlich, daß letzteres in den Versuchen von Schultz, Atkin und Frey (440) bei Gegenwart der verschiedenen Bios-Komponenten auf die Spiritushefen II und XII als Wuchs-

stoff, auf Bierhefen — und zwar Sacch. cerevisiae-Stämme — aber hemmend wirkte. Auf die Unterschiede im B_1-Gehalt der Hefen scheint vor allem die Zusammensetzung des Nährmediums einen bestimmenden Einfluß auszuüben (351 a). Stark aktive Bierheferassen sind nach Palej (348) im allgemeinen reicher an B_1 als weniger aktive. Die Trocknung der Bierhefe ist zufolge Scheunert und Schieblich (391) mit keiner Wirksamkeitseinbuße verbunden. In Torula utilis wiesen die letztgenannten Forscher (396) je Gramm Trockensubstanz 8 I. E. nach. Die Prüfung auf Aneurin im Taubenversuch ergab nach Hoet, Leclef und Delrue (162) bei Monilia candida ein positives, bei Tor. rosea und Mycoderma cerevisiae ein negatives Resultat.

Manche Braun- und Rotalgen enthalten dieses Ergon ebenfalls und daher finden sich Spuren hiervon im Agar [Schopfer und Blumer (426)]; auch gewisse Sorten von Handelsgelatine dürften nach den Angaben von Koser, Chinn und Saunders (227) dasselbe neben anderen Wuchsstoffen enthalten.

Was das Vorkommen des Thiamins in Bakterien anbelangt, konnte dasselbe — z. T. neben anderen Vitaminen der B-Gruppe — vor allem durch Scheunert und Schieblich vielfach nachgewiesen werden. So in ziemlich reichlicher Menge im Bac. vulgatus (390, 392, 398, 399), bei dem sich eine Abhängigkeit der Produktion vom p_H ergab (392) und feststellen ließ, daß das Vitamin nicht an die Nährlösung abgegeben wird (390), was auch Guha (132) bestätigen konnte.

Positive Ergebnisse wurden ferner erzielt beim Bac. mycoides ruber (400), Bac. ellenbachensis (401), Bac. mesentericus (399), Bac. mycoides (400), Bact. lactis aerogenes (402), Bact. prodigiosum (407, 402), Vibrio alcaligenes (402), dann durch Sunderlin und Werkman (461)[1]) beim Bact. coli, Bac. subtilis, Azotobacter chroococcum, Rhizobium leguminosarum und Actinomyces, durch West und Wilson (503) bei Rhizobium trifolii, durch Damon[1]) beim Pfeifferschen und Timothee-Bazillus (72) sowie bei den Smegma- und Möllerschen Bazillen (73), durch Orr-Ewing und Reader (343) bei Meningokokken sowie durch Annok und Buchgraber (11) bei Diphtheriebazillen, bei denen auch eine Steigerung der Toxinbildung beobachtet werden konnte. Über ein Vorkommen von Thiamin bei Bakterien, die aus dem Darmkanal der Ratte stammten und dieses Ergon synthetisieren können, haben Abdel-Salaam und Leong (1) berichtet; hiermit in Zusammenhang steht das sog. Refrektionsphänomen, das auf die Bildung des Vitamins B_1 im Verdauungstrakt der Ratte zurückzuführen ist. Auch Essigsäurebakterien dürften Vitamin B_1 zu bilden vermögen, da es Krizenecky und Nevalonnyj (233) im Gärungsessig nachwiesen.

Als Ausgangsmaterial für die Gewinnung des Vitamins B_1 kann außer Reis vor allem Brauerhefe [Seidell (445), Ohdake (336)], ferner auch Bäckerhefe [Kinnersley und Mitarbeiter (191, 192)] Verwendung finden.

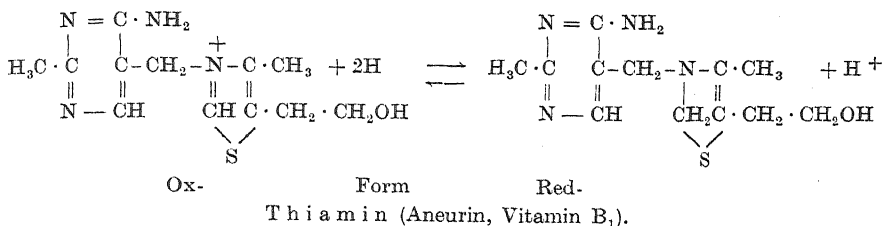
Von den Eigenschaften des Thiamins sind am charakteristischsten die Adsorbierbarkeit an Fullererde, Kohle und Kaolin, die quantitative Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure bei $p_H = 4{,}5$—$5{,}5$, die hohe Hitzeresistenz, die nach Schopfer und Blumer (426) im Pilztest stärker zum Ausdruck kommt als im Tierversuch, sowie die Beständigkeit gegen oxydierende und reduzierende Agentien, während durch Alkalien Zerstörung eintritt.

Der chemische Bau des Thiamins ist der einer basischen Substanz, die man sich aus 2-methyl-5-aminomethyl-6-amino-pyrimidin und 4-methyl-5-(β-oxyäthyl-)-thiazol unter NH_3-Austritt aufgebaut denken kann, so daß sich zufolge Williams (519, 521) die nachstehende Formel ergibt, wobei der Thiazolring als Redoxsystem wirkt (261, 425, 19), gemäß der Gleichung:

---

[1]) In diesen Versuchen dürften vorwiegend andere B-Faktoren zur Wirkung gekommen sein.

```
    N = C·NH2                                   N = C·NH2
    |   |       +                               |   |
H3C·C   C–CH2–N–C·CH3  + 2H   ⇌   H3C·C   C–CH2–N–C·CH3   + H+
    ‖   ‖     ‖ ‖                               ‖   ‖     | ‖
    N — CH    CH C·CH2·CH2OH                    N — CH    CH2C·CH2·CH2OH
               \/                                          \/
               S                                           S
       Ox-              Form              Red-
```

Thiamin (Aneurin, Vitamin B_1).

β) Einfluß des Thiamins und seiner Konstituenten auf die Organismen.

Die Wirkung des Thiamins auf den höheren tierischen Organismus äußert sich darin, daß es Polyneuritis, die sich vor allem bei Tauben in besonders charakteristischen Krämpfen zu erkennen gibt, zum raschen Verschwinden bringt.

Einige Sproßpilze benötigen es zufolge Williams und Roehm (512) für das Wachstum, ohne es bilden zu können; ein gleiches trifft für manche Hyphenpilze zu, wie z. B. Phycomyces nitens und Ph. Blakesleeanus [Schopfer (413)], Mucor Ramannianus [Müller (302)] und andere Mucoraceen (407), vor allem aber kommen Vertreter parasitischer Gattungen in Betracht, so von Chaetocladium und Parasitella [Burgeff (49), Schopfer (413)], Ustilago [Blumer (28), Schopfer und Blumer (426)] und einer Reihe anderer [Robbins und Kavanagh (376)]. Auch holzzerstörende Pilze benötigen das Thiamin; so zeigte in den Versuchen von Noecker (333) eine Reihe solcher Pilze nur bei Zusatz dieses Ergons auf Mineralsalzagar Wachstum. Entsprechend der Wirkung, die ein Thiamin-Zusatz zu einem solchen synthetischen Nährboden ausübt, hat Fries (114 a) unter den von ihm untersuchten Pilzen — vorwiegend holzzerstörenden Polyporaceen — vier Typen unterschieden. Die günstige Wirkung von Saponin auf die Entwicklung von Ustilago violacea f. Melandrii konnte durch Blumer (28) auf den Einfluß des dem Saponin als Verunreinigung anhaftenden Aneurins zurückgeführt werden.

Die optimalen Thiaminkonzentrationen liegen bei den Pilzen um so niedriger, je höher die Einsaat sich beläuft; für mittlere Einsaaten bei Phycomyces zufolge Schopfer (415) ungefähr bei 2 γ je 100 ccm, bei Ustilago violacea nach Schopfer und Blumer (426) bei 0,04 bis 0,08 γ je 100 ccm. Synthetisches Thiamin wirkte in den Versuchen Schopfers (417) auf Phycomyces in der gleichen Weise wie natürliches Vitamin B_1.

Fries (114 a) verwendet als quantitativen Ausdruck für den Thiamin-Bedarf der Pilze den Mycel-Aneurin-Quotienten [M/A-Quotient], worunter er das durch die (suboptimale) Gewichtsmenge des verwendeten Thiamins dividierte maximale Mycelgewicht versteht; in seinen Versuchen betrug dieser Quotient meist 1,5 Millionen.

Durch Oxydation des Thiamins mittels H_2O_2 verliert es seine Wirkung auf Phycomyces so wie im Tierversuch; auch das durch Oxydation dieses Vitamins mit Ferricyankali in alkoholischem Kali erhältliche Thiochrom [Barger, Bergel und Todd (16), Kuhn und Mitarbeiter (238)] ist auf das Pilzwachstum nur von ganz geringem Einfluß [Schopfer und Jung (430)]; am stärksten ist derselbe noch auf Rhodotorula rubra.

Die Empfindlichkeit des Ph. Blakesleeanus gegenüber Thiamin läßt es zufolge Schopfer (412, 424, 432) unter günstigen Umständen

möglich erscheinen, mit Hilfe dieses Pilzes den Gehalt eines Substrates an diesem Vitamin zu bestimmen; einer Modifikation dieser Methode bediente sich Meiklejohn (280) zur Bestimmung von B_1 im Blut [vgl. auch (296, 348, 104 a)].

Die oben bereits genannten Konstituenten des Thiamins, nämlich 2-methyl-5-aminomethyl-6-amino-pyrimidin und 4-methyl-5-(β-oxyäthyl-)-thiazol, besitzen für sich allein keine Wachstumswirkung gegenüber Phycomyces [Schopfer (431, 421, 426)] bzw. Ustilago violacea [Schopfer (423)]; das Gemisch beider hingegen wirkt auf die genannten Organismen so wie Thiamin (431, 447, 375), wobei die Zuwachswirkung durch die in geringerer Konzentration vorliegende Komponente bestimmt wird (375, 279 a) und beide Komponenten auch durch Substituenten ersetzbar sind (431, 421, 426). Der Thiazol-Anteil muß jedoch ein freies N-Atom aufweisen und eine OH-Gruppe bzw. eine leicht in eine solche überführbare Gruppe; im Pyrimidinkomplex muß sich eine reaktiv substituierte 5-Methylgruppe und eine 6-Aminogruppe vorfinden, die nicht durch OH ersetzbar ist (35 a).

Nach Sinclair (447) zeigt das Thiazol in Kombination mit Nicotinsäureamid auch ohne Pyrimidin eine Wirkung auf Phycomyces, und zwar eine solche mittleren Grades. Ja selbst allein können die beiden Komponenten des Aneurins wirken, und zwar Thiazol auf Mucor Ramannianus (303) und Pyrimidin auf Rhodotorula (419), Dematium nigrum (426) sowie auf Phytophthora fagopyri, Schizophyllum commune und einige Pythium-, Sclerotium- und Sphaerulina-Arten [Robbins und Kavanagh (376)]; für manche dieser Pilze konnte die Fähigkeit zur Synthese der Thiazol-Verbindung erwiesen werden (419, 376). So ließ sich zeigen, daß Rhodotorula, die mit Pyrimidin das Auslangen findet, ein Extrakt liefert, das auf Phycomyces fördernd wirkt, obwohl dieser Pilz beide Konstituenten des Thiamins zum Wachstum benötigt. Daß das Thiazol von manchen Pilzen synthetisiert wird, geht auch aus Versuchen von Robbins und Kavanagh (377) an Torula sowie von Müller und Schopfer (303) an Rhodotorula, Parasitella und Absidia hervor. Dafür spricht auch die Feststellung von Robbins und Kavanagh (378) an Pythium Butleri und anderen Pilzen, wonach diese in Mineralnährlösung mit Asparagin und Zucker nur bei Zusatz von Thiamin oder der Pyrimidinkomponente desselben gesteigertes Wachstum zeigen.

Für Thiamin konnte ebenso wie für Biotin durch Kögl und Fries (206) erwiesen werden, daß ein Pilz, der auf diese Ergone nicht anspricht, dieselben zu synthetisieren vermag.

Auf Hefe soll Thiamin ebensowenig wie das Vitamin B_2 wirken [Schopfer (406, 410, 414)]; dies steht jedoch im Widerspruch mit den Versuchsergebnissen anderer Forscher, z. B. mit jenen von Williams und Roehm (512).

Auch bei Bakterien kann das Thiamin so wie bei manchen Pilzen durch ein Gemisch der Pyrimidin- und Thiazolkomponente ersetzt werden, wie dies Knight (197) gezeigt hat. Dem gleichen Forscher zufolge ist zum aeroben Wachstum mancher Spaltpilze, wie z. B. des Staphylococcus aureus, neben Thiamin noch Nicotinsäureamid nötig. Die Wirkung dieses Ergongemisches konnte Kögl (204) durch Zugabe von kristallisiertem Biotinmethylester stark erhöhen; alle diese Faktoren lassen sich gegenseitig ersetzen, was für einen einheitlichen Wirkungsmechanismus spricht. Bei Bact. radicicola soll Thiamin nach Nilsson und Mitarbeiter (331) bereits in Mengen von 0,006 γ den Zuwachs fördern, wobei ein Ätherextrakt aus Hefe diese Wirkung erhöht; die Gesamtheit dieser Faktoren ist offenbar in dem „Co-Enzym R“ von Allison und Mitarbeiter (4) enthalten. Die wachstumsfördernde Wirkung des Vitamins B_1 zeigte sich jedoch nur bei der Kleegruppe, und zwar auch hier nur bei einem Teil der Stämme (332 a). Neuerdings konnte auch ein Einfluß des Thiamins auf Größe und Form der Zellen von Bact. radicicola festgestellt werden [Nilsson und Mitarbeiter (332)].

Auch bei Tuberkelbazillen ist nach Leitner (250) durch Thiaminzusatz eine Förderung des Wachstums zu beobachten, und zwar besonders deutlich dann, wenn die Organismen bereits an ein künstliches Nährmedium angepaßt sind. Eine Begünstigung der Entwicklung konnten Peters und Mitarbeiter (352) sowie Reader (366) auch bei Actinomyces (Streptothrix) corallinus feststellen, doch dürften hierbei vorwiegend andere B-Faktoren beteiligt gewesen sein (352).

Nach den Feststellungen von Lwoff (272, 275, 277) nehmen auch manche Flagellaten mit beiden Bestandteilen des Thiamins, sofern sie zusammen verabreicht werden, vorlieb, während andere, wie z. B. Chilomonas, sich sogar mit einer der beiden Komponenten begnügen.

Im Hinblick auf die verschiedene Fähigkeit zur Synthese des Thiamins bzw. seiner Konstituenten und unter Zugrundelegung der schematischen Übersichten von Schopfer (426) und Robbins (372) können die daraufhin untersuchten Organismen in nachstehende 7 Gruppen zusammengefaßt werden.

I. Thiamin wird vollständig synthetisiert: Höhere Pflanzen, Absidia glauca (303, 420), Asp. oryzae (468, 469), Monilia candida (162), Ustilago zeae, U. tritici, U. levis, U. nuda, U. hordei, U. avenae, U. bromivora (426, 427), Fusarium graminearum (70, 71), Tor. Hansen, Tor. sphaerica (377).

Schopfer (425) stellt die höhere Pflanze als thiaminautotroph den hierher gehörigen Pilzen gegenüber; letztere bezeichnet er als auxo-autotroph, da bei diesen das Vitamin B_1 bzw. dessen Konstituenten vorwiegend nicht als solche, sondern in einem vorgebildeten Zustand vorhanden sind.

II. Pyrimidin wird synthetisiert, Thiazol muß geboten werden: Mucor Ramannianus (303), abgeschnittene Tomatenwurzeln (374).

III. Thiazol wird synthetisiert, Pyrimidin muß geboten werden: Pythium Butleri, P. polycladon (372), Phytophthora fagopyri (372, 373), Rhodotorula rubra, R. flava (419, 420), Schizophyllum commune (372), Sclerotium delphinii, Scl. Rolfsii (372), Sphaerulina trifolii (372), Tor. rosea, Tor. sanguinea (372, 377).

IV. Etwas Thiazol wird synthetisiert; Förderung durch Pyrimidin, gute Entwicklung aber nur mit Thiamin: Absidia ramosa (420), Parasitella (420).

V. Beide Komponenten des Thiamins müssen geboten werden: Phycomyces nitens (372), Ph. Blakesleeanus (375, 448, 431, 432), Tor. Laurentii, Tor. fermentati (372), Ustilago violacea (426, 427), Staphylococcus aureus (197).

VI. Das fertige Thiamin-Molekül muß geboten werden: Höheren Tieren, den Flagellaten Glaucoma pyriformis und Strigomonas oncopelti (275, 277), Phytophthora cinnamonni, Ph. capsici (372, 373), Tor. cremoris, Tor. kefyr (377), Ustilago scabiosae (426, 427).

VII. Thiamin wirkt hemmend auf das Wachstum: Rhizopus nigricans (413, 372).

γ) Wirkungsmechanismus des Thiamins.

Die Wirkung des Thiamins auf das Pilzwachstum scheint vor allem darin zu liegen, daß es die Ausnutzung der Stickstoffverbindungen beeinflußt [Schopfer (411, 422)].

So besteht für Phycomyces Blakesleeanus bei Überschuß an Zucker und optimalem B_1-Gehalt für jede Asparagin-Konzentration ein Maximum an Trockensubstanz; eine Erhöhung des B_1 über diesen Betrag hinaus führt zu rascher Abnahme des N-Stoffwechsels, was mit proteolytischen Vorgängen in Zusammenhang gebracht wird. Ähnlich wie beim Asparagin liegen die Verhältnisse auch bei anderen N-Quellen, wie Pepton, Harnstoff, Glykokoll, Alanin, Valin, Ammoniak und Ammoniumsulfat [Schopfer (418)]. Die zur Gewinnung von 1 mg Myzeltrockensubstanz nötige Menge an B_1 wird von Schopfer (415), Phycomyces-Einheit (l'unité Phycomyces [U. P.]) genannt; eine U. P. beträgt unter normalen Bedingungen bloß 5 Milli-

gamma. Für Ustilago violacea kommt nach Schopfer u. Blumer (426) eine größere Anzahl von Aminosäuren als gute N-Quellen in Betracht als für Phycomyces, wobei nur die in natürlichem Eiweiß vorkommenden optischen Formen wirksam sind.

Auch bei Bakterien scheint das Thiamin auf die Assimilation von N-Verbindungen einzuwirken; so soll zufolge Tatum und Mitarbeiter (474, 475) bei Propionibacterium pentosaceum vor allem die Aufnahme der Ammonsalze beeinflußt werden.

Wahrscheinlich ist die Stickstoffassimilation der Mikroben irgendwie mit der Atmung gekoppelt. So soll zufolge Bünning (48) das Thiamin sowie das Lactoflavin und der auf Asp. niger wirkende Schimmelpilzwuchsstoff B infolge Erleichterung der Sauerstoffübertragung und hierdurch bedingter Atmungssteigerung die Resorption des Nitratstickstoffs durch Asp. niger fördern und jene des Ammonstickstoffs hemmen, wodurch auch die Wasserstoffionenkonzentration auf die für die Konidienbildung geeignete geringe Höhe herabgedrückt wird.

Es hat demnach den Anschein, als ob das Thiamin auch bei den Mikroben ähnlich wie im Organismus des höheren Tieres in den Kohlenhydratstoffwechsel eingreifen würde, was schon durch seine Beziehungen zum Enzym Carboxylase erklärlich erscheint.

Wie nämlich Lohmann und Schuster (265) nachwiesen, ist das Vitamin B_1 in seiner Diphosphorsäureverbindung (Pyrophosphat) als Agon (Co-Enzym) der Carboxylase (403) zu betrachten und katalysiert daher die CO_2-Abspaltung aus Brenztraubensäure. Euler und Vestin (104), Lipschitz und Mitarbeiter (263) sowie Tauber (478) gelang dann die synthetische Darstellung der Co-Carboxylase aus Thiamin auf enzymatischem, Stern und Hofer (458) sowie Tauber (479) auf chemischem Wege (vgl. auch 193). Die Bestimmung der Co-Carboxylase neben dem Thiamin läßt sich nach einer von Roth (383) angegebenen Methode durchführen. Wir können mit Kollath (224) annehmen, daß durch die Entkarboxylierung der Brenztraubensäure und die hierdurch bedingte Zerstörung der Ox-Stufe das System dauernd auf einem negativeren Potential gehalten wird und daher das Ausbleiben der Carboxylasewirkung eine Verschiebung des Potentials nach der positiven Seite zur Folge haben muß.

Nach Lipmann (262) soll die Co-Carboxylase in Milchsäurebakterien auf einem besonderen spezifischen Träger verankert sein; da dieses neuartige Enzym eine Dehydrierung der Brenztraubensäure bewirkt, hat Oppenheimer (338) für dasselbe die Bezeichnung Pyruvo-Dehydrase gewählt.

Ein Eingreifen des Thiamins in den Pyruvat-Stoffwechsel nimmt Hills (159) auch beim Staphylococcus aureus an.

Die Wirkung des Vitamins B_1 als Co-Carboxylase läßt es verständlich erscheinen, daß nach Schultz, Atkin und Frey (439, 441a) eine Gärprobe mit Hefe als Aneurin-Test geeignet ist; hierbei soll denselben Forschern (441) zufolge ein Zusatz von Nicotinsäure empfehlenswert sein.

b) Das Vitamin B_2 [Riboflavin G, Lactoflavin (33, 45, 46)].

α) Vorkommen, chemische Zusammensetzung und Eigenschaften.

Das Vitamin B_2 ist zu den Flavinen oder Lyochromen [(494), Karrer (182)] zu rechnen, die als gelbe Substanzen von grüner Fluoreszenz in Pflanzen und Tieren weit verbreitet sind, so in Milch, Leber, Harn, im Eiereiweiß sowie in Samen. Auch in den Handelspräparaten von Pepton und in proteolytischen Enzymen ist dasselbe zufolge Orla-Jensen und Mitarbeiter (342) enthalten. Es kommt ferner so wie das Thiamin in Hefe vor, jedoch sind die Unterschiede im Gehalt zwischen Brauer- und Bäckerhefe gering. Das relative Verhältnis der Vitamine B_1 und B_2 ist bei den

einzelnen Heferassen recht verschieden (257 a, 82). In der getrockneten Holzzuckerhefe Tor. utilis wurde durch Scheunert und Schieblich (395) der B_2-Gehalt bedeutend höher als in Biertrockenhefe gefunden, nämlich zu 10—13 biologische Einheiten je Gramm. In der Spiritushefe Rasse XII konnten je Gramm 40 Einheiten ermittelt werden (180). Zur Extraktion aus Hefe hat Day (75) 60proz. wässerige Lösungen von Aceton oder Methanol als geeignet erkannt.

Nach Beobachtungen von Pett (354) tritt eine Steigerung des Flavingehalts der Hefe ein, wenn man die eisenhaltigen Katalysatorsysteme durch HCN od. dgl. vergiftet. Bei solchen in Cyanid gewachsenen Zellen von Sacch. cerevisiae war der Gehalt an Lactoflavin anfänglich erhöht; bei längerer Fortzüchtung sank derselbe immer mehr herab, bis in der 10. Generation das Lactoflavin ganz verschwunden und an seine Stelle ein blaufluoreszierender Farbstoff getreten war. Einen ähnlichen Farbstoff sah derselbe Forscher (353) bei Einwirkung eines von ihm neu isolierten Bakteriums auf eine wässerige Flavinlösung entstehen.

In Asp. oryzae fanden Scheunert und Schieblich (394) ungefähr doppelt soviel B_2 als in Trockenhefe. Auch im Ascomyceten Erymothecium Ashbyii konnte es durch Guilliermond, Fontaine und Raffy (134, 361 a) nachgewiesen werden; aus den Nährlösungen dieses Pilzes gewannen es Mirimanoff und Raffy (288) in ziemlich reinem Zustand. Wie Willstaedt (522) gezeigt hat, kann man es auch aus dem echten Reizker (Lactarius deliciosus) gewinnen.

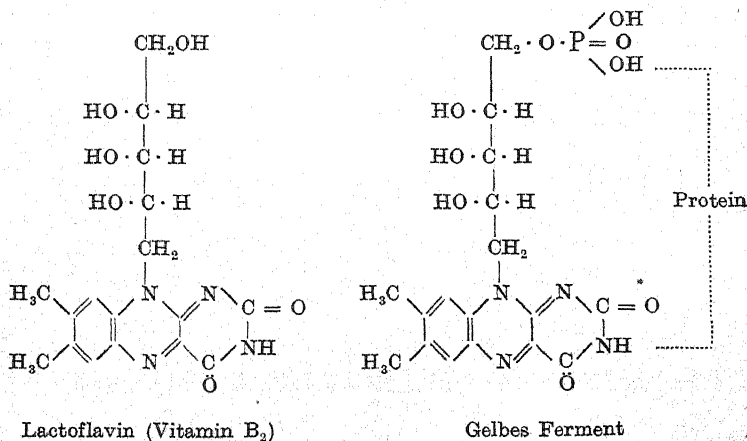
Auch in einer Anzahl von Bakterien konnten Warburg und Christian (495) Flavine nachweisen, so in Milchsäure-, Buttersäure- und Essigsäurebakterien.

Was das Vorkommen von Lactoflavin in Algen anbelangt, sei auf den Nachweis desselben in der grünen Süßwasseralge Cladophora Sauteri und in der braunen Meeresalge Fucus vesiculosus durch Heilbron und Mitarbeiter (154) hingewiesen.

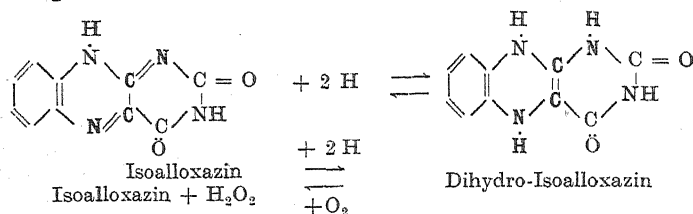
In den Mikroben findet sich das Lactoflavin meist nicht im freien Zustand, sondern als Phosphat an Eiweiß als Träger verankert im „gelben Ferment“ vor, von dem die anaerob lebenden Bakterien am meisten enthalten (495).

Zur Gewinnung des Lactoflavins eignen sich vor allem Molke und Eiklar [Ellinger und Koschara (91), Kuhn und Mitarbeiter (236)]. Das aus diesen erhaltene reine Produkt ist durch die Arbeiten von Karrer und Kuhn und ihrer Schulen als 6,7-dimethyl-isoalloxazin-ribose identifiziert worden.

```
         CH2OH                            CH2·O·P(=O)(OH)2 ........
           |                               |                       :
       HO·C·H                          HO·C·H                      :
           |                               |                       :
       HO·C·H                          HO·C·H                      :
           |                               |                       :
       HO·C·H                          HO·C·H                   Protein
           |                               |                       :
          CH2                             CH2                      :
           |                               |                       :
H3C      N     N                H3C      N     N                   :
           C = O                            C = O                  :
              NH                               NH .................:
H3C      N  C                   H3C      N  C
            O                                O
```

Lactoflavin (Vitamin B_2) Gelbes Ferment

Das Vitamin B_2 stellt nach Kuhn und Boulanger (235) mit seinem Normalpotential von — 185 mV ein stark negatives, reversibles Redoxsystem vor, wobei der Isoalloxazinring als Wasserstoffakzeptor wirkt.

$$\text{Isoalloxazin} + 2\,H \rightleftharpoons \text{Dihydro-Isoalloxazin}$$

$$\text{Isoalloxazin} + H_2O_2 \rightleftharpoons \text{Dihydro-Isoalloxazin} + O_2$$

Das reine Lactoflavin bildet braunrote Nadeln, die bei 282—286° C unter Zersetzung schmelzen. Die neutrale wässerige Lösung ist grüngelb gefärbt mit intensiv gelbgrüner Fluoreszenz. Gegen Oxydationsmittel weist Lactoflavin große Beständigkeit auf, während durch Reduktion über Verdo-, Chloro- und Rhodoflavin das farblose Leukoflavin entsteht, das sich beim Schütteln mit Luft in das Flavin rückverwandelt. Belichtung in neutraler Lösung führt zum Lumichrom, eine solche in alkalischer Lösung zum Lumiflavin, das nach Ansäuern in Chloroform löslich ist. Lactoflavin wird durch Bleiazetat sowie durch Silbernitrat in neutraler Lösung gefällt. Die Hitzebeständigkeit ist bei saurer Reaktion bedeutend, bei alkalischer gering.

An Phosphorsäure gebunden und an ein Protein als Pheron (Apo-Enzym) verankert, bildet das Lactoflavin als sog. „gelbes Ferment" (482) eine oxytrope Dehydrase, d. h. ein wasserstoffaktivierendes Enzym, das den aktivierten Wasserstoff entweder an den Luftsauerstoff oder an irgendeine chemische Verbindung als Acceptor weitergibt. Somit werden Organismen durch den Besitz dieses Enzyms befähigt, sowohl mit als auch ohne Sauerstoff, demnach als fakultative Anaerobier, zu leben; freilich geht auch bei diesen Mikroorganismen unter aeroben Verhältnissen der Hauptteil der Atmung über das terminale Fermenthämin (siehe weiter unten). Das Normalpotential des kompletten Enzymsystems ist mit — 60 mV wesentlich weniger negativ als jenes des Lactoflavins (235).

Die Bestimmung des Vitamins B_2 erfolgt biologisch durch den Rattenwachstumstest, wobei es gleichgültig ist, ob das freie Lactoflavin, sein Phosphorsäureester oder dessen Eiweißverbindung vorliegt. Das freie Flavin, das vom gelben Ferment durch Dialyse und vom Phosphat durch Kataphorese getrennt werden kann, läßt sich bestimmen entweder nach Euler durch Photometrierung der Fluoreszenz oder nach Kuhn durch Überführung in Lumiflavin, dessen Menge im Chloroform-Auszug kolorimetrisch ermittelt werden kann. Bei diesen chemischen Methoden können sich jedoch durch Mitbestimmung biologisch unwirksamer Flavine zu hohe Werte ergeben.

β) Die Wirkung des Lactoflavins.

Die Wirkung des Lactoflavins auf den höheren tierischen Organismus äußert sich in einer Förderung des Wachstums, zumindest bei der B_2-frei ernährten Ratte bzw. dem Huhn.

Manche Mikroorganismen benötigen das Lactoflavin zu ihrer Entwicklung. So brauchen es die echten Milchsäurebakterien neben Bios, und zwar die zum Genus Thermobacterium gehörigen in der besonders großen Menge von 0,5 mg je Liter [Orla-Jensen, Otte und Snog-Kjaer (340)]. Wie Adler und Euler (2) an Thermobacterium helveticum in Glucoselösung mit Lactoflavin, Ovoflavin und Lumiflavin ermittelt haben, wird durch diese Substanzen eine Steigerung der Atmung bewirkt. Nach den Feststellungen von Wood, Anderson und Werkman (527) zeigen auch manche heterofermentative Milchsäurebakterien nur bei Gegenwart von Lactoflavin gutes Wachstum.

Auch Propionsäurebakterien (527) und Tetrakokken sind auf dieses Ergon angewiesen; soferne die letzteren farbstoffbildend sind, kommt es ohne Vitamin B_2 überhaupt nicht zur Farbstoffproduktion [Orla-Jensen, Otte und Snog-Kjaer (341)]. Auch Fluoreszenten wachsen bei B_2-Zufuhr besser und bilden mehr Farbstoff, was insofern verständlich erscheint, als das Bacteriofluorescein nach Orla-Jensen und Mitarbeiter (341) ein Flavin ist. Möglicherweise ist auch das die Vermehrung von Bac. mycoides stimulierende Ergon [Pulkki (360)] sowie der die Gärung von Zucker durch Propionsäurebakterien fördernde Faktor mit dem Vitamin B_2 identisch, zumindest findet sich letzterer in der B_2-Fraktion, wie sie aus Hefe gewonnen wird [Lava, Ross und Blanchard (244)].

In seiner Wirkung auf Milchsäure-Langstäbchen läßt sich das Lactoflavin zufolge Snell und Strong (449) ebenso wie bei Ratten nur durch die ihm nahestehenden Abkömmlinge 6-Methyl-9-(d, l'-ribityl)-isoalloxazin, 7-Methyl-9-(d, l'-ribityl)-isoalloxazin und 6-Äthyl-7-methyl-9-(d, l'-ribityl)-isoalloxazin ersetzen; es herrscht demnach auch gegenüber Mikroorganismen eine hohe Konstitutionsspezifität.

Im Gegensatz zu den genannten Bakterien, denen das Vitamin B_2 zum Teil geboten werden muß, damit sie Entwicklung zeigen, sind Aceton-Butanol-Bakterien, wenn sie bei Gegenwart von $CaCO_3$ in Getreidemaischen gezogen werden, zufolge Yamasaki und Yositome (531) befähigt, ein Flavin zu bilden, was sich schon an der tiefgelben Verfärbung der Gärflüssigkeit zu erkennen gibt.

Auch auf manche Pilze wirkt Lactoflavin wachstumsfördernd, so auf Phyc. Blakesleeanus (410) und auf einige andere Mucoraceen, wie M. Ramannianus, M. mucedo (—), M. hiemalis (+), Absidia repens und A. orchidis (+) (408).

Da das Lactoflavin zufolge Warburg und Christian (496 a) sowie Straub (459) als Lactoflavinadeninnucleotid das Co-Enzym der d-Alanin-Dehydrase bildet, das vielleicht mit dem Flavinphosphorsäure-adenin-nucleotid von Karrer identisch ist, besteht die Möglichkeit, daß das Vitamin B_2 sich auch am oxydativen Abbau der Aminosäuren in den Organismen beteiligt [Karrer (182)]. Für einen Zusammenhang zwischen Lactoflavin und oxydativem Stoffwechsel sprechen auch die Versuche von Doudoroff (80a) mit Leuchtbakterien, wobei sich ergab, daß geringe Mengen dieses Ergons die Atmung in Gang hielten, während größere die Lumineszenz förderten.

c) Andere Vitamine der B-Gruppe [33, 45, 46), Elvehjem (94)].

Von den übrigen Vitaminen der B-Gruppe finden sich einige in Mikroorganismen, vor allem in Hefe, vor.

Hierher sind die Vitamine B_3, B_4, B_5 und Bv von Euler, das ebenso wie der von Euler und Malmberg (100) aufgefundene Hefefaktor Y (59) mit dem Vitamin B_6, dem Adermin (239), wahrscheinlich identisch ist, sowie der P.P.-Faktor zu rechnen. Der Faktor B_4, über dessen Gewinnung aus Hefe wir Barnes, O'Brien und Reader (17) sowie Kinnersley und Mitarbeiter (192) nähere Angaben verdanken, enthält Adenin (492, 442) und dürfte daher den Dehydrasen oder Phosphatasen nahestehen. Dieses Vitamin B_4 ist neben B_1 und B_2 durch Gorcica, Peterson und Steenbock (127) im Myzel von Asp. Sydowii nachgewiesen worden. Wie Möller (291) feststellen konnte, wirkt Adermin auf bestimmte Hefen sowie auf Milchsäurebakterien als Wuchsstoff; bei letztgenannten Mikroben sind 0,4—0,6 γ je Kubikzentimeter optimal.

Mit einem der genannten B-Faktoren dürfte offenbar jener ungemein hitzeresistente Hefe-Getreidefaktor (HG-Faktor) von Kollath (222) wesensgleich sein, der mit dem Vitamin A gemeinsam zur Wirkung kommen muß, um Wachstum des tierischen Organismus zu ermöglichen [vgl. Glanzmann (125)].

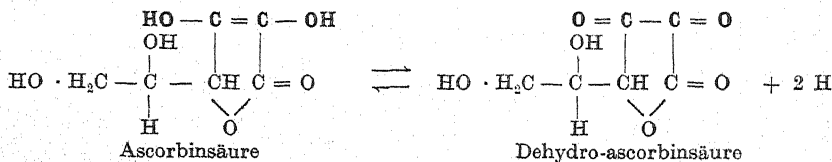
3. Das Vitamin C [(33, 45, 46) sowie Giroud (123)].

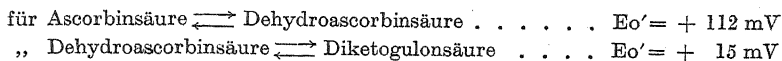
a) Vorkommen, chemische Zusammensetzung und Eigenschaften.

Das Vitamin C, wegen seiner antiskorbutischen Wirkung auch Ascorbinsäure genannt [Szent-György (466, 467)], findet sich vor allem im Paprika sowie in Orangen und Zitronen vor. In erheblicher Menge ist es neben Vitaminen der B-Gruppe auch in Meeresalgen enthalten, wie dies Norris, Simeon und Williams (334) sowie Lunde und Lie (271) festgestellt haben.

Bei Pilzen konnte die Bildung einer reduzierenden Substanz, die der Ascorbinsäure nahestehen dürfte, beobachtet werden, so durch Bernhauer (22, 23) sowie durch Fukumoto und Shimomura (116) bei Asp. niger und den beiden japanischen Forschern zufolge auch bei Asp. cellulosae, Asp. fumigatus, Asp. nidulans und Asp. melleus, ferner bei Pen. glaucum und Pen. luteum. Als Kohlenstoffquellen hierfür kommen Fructose, Saccharose, Mannit und Stärke in Frage. Im Fütterungsversuch an Meerschweinchen zeigte sich jedoch keine physiologische Wirkung (116). An Asp. niger ließ sich durch Lavollay und Laborey (245) bei Mg-Mangel das Auftreten eines gelben Pigments feststellen, dessen Bildung durch Ascorbinsäure hintangehalten wurde. Auch der japanische Teepilz (Kombucha), eine Symbiose von Essigsäurebakterien und Hefen, kann nach Kashevnik (184) auf gezuckertem Tee — insbesondere nach vorheriger Züchtung in Hefeextrakt — aus Saccharose reduzierende Stoffe bilden, die mit der Ascorbinsäure nahe verwandt sein sollen. Auch Herrmann und Fodor (156) schließen aus ihren Versuchen mit Kombucha auf das Vermögen derselben zur Synthese von l-Ascorbinsäure (vgl. auch 166a).

Was die sonstige Bildung der Ascorbinsäure durch Bakterien anbelangt, sei darauf hingewiesen, daß die Fähigkeit hierzu durch Palladina und Anoschkina (349) bei einigen Milchsäurestreptokokken, wie dem Str. lactis, Str. cremoris und dem Str. vitrovorus sowie bei manchen Milchsäurelangstäbchen nachgewiesen wurde. Eine beim Wachstum des Bact. prodigiosum entstehende stark reduzierende Substanz bestimmten Berencsi und Illényi (21) mit Tillmanns Reagens und fanden mit d-Xylose als Kohlenstoffquelle die höchsten Werte; die genannten Forscher sehen diese Substanz als Ascorbinsäure an. Auch Bourne und Allen (39) glauben dieses Ergon in Bakterien, Schimmelpilzen und Ciliaten nachgewiesen zu haben (vgl. 23). Kollath (224) hält die Bildung des Vitamins C durch den obligaten Darmanaerobier, den Bac. bifidus, für möglich, während er in Gemeinschaft mit Leichtentritt (225) mit den sonstigen Darmbakterien an Meerschweinchen keine Wirkung erzielen konnte. Ebenfalls negativ verliefen die Versuche von Scheunert und Reschke (389) mit verschiedenen Speisepilzen.

```
                 HO — C = C — OH                          O = C — C = O
              OH      |   |                           OH      |   |
                |     |   |                             |     |   |
HO · H2C — C — CH  C = O        ⇌    HO · H2C — C — CH  C = O    + 2 H
                |      \ /                              |      \ /
                H       O                               H       O
           Ascorbinsäure                          Dehydro-ascorbinsäure
```

Die chemische Zusammensetzung der Ascorbinsäure ist nach den Untersuchungen von Karrer, Haworth, Hirst und Micheel [vgl. Haworth und Hirst (152 a)] die des Enols eines 3-keto-l-gulo-furanolactons. Dieses Dienol steht in einem Redoxgleichgewicht mit dem Diketon, der Dehydroascorbinsäure, und letztere Verbindung wieder mit der 2,3-diketo-l-gulonsäure; beide Redoxsysteme sind aber nur bei saurer Reaktion reversibel. Das Normalpotential bei $p_H = 5{,}5$ beträgt nach Borsook und Mitarbeiter (36)

für Ascorbinsäure $\rightleftarrows$ Dehydroascorbinsäure . . . . . . Eo′ = + 112 mV
„ Dehydroascorbinsäure $\rightleftarrows$ Diketogulonsäure . . . . Eo′ = + 15 mV

Oberhalb p_H = 7,6 tritt eine irreversible Umsetzung zu physiologisch unwirksamen Produkten ein. Eine solche wird wohl zumeist auf oxydativem Wege bewirkt, wobei es nach Holtz und Triem (146) zur Bildung eines Peroxyds zu kommen scheint; diese oxydative Zerstörung wird zufolge Carteni und Morelli (55) durch Cu-Ionen katalytisch begünstigt. Aus Versuchen an Ascorbinsäure und Aminosäuren schließt Rudolph (384), daß es zwischen dem Vitamin C und Eiweißkörpern Symplexe gibt, die gegen den Luftsauerstoff wesentlich widerstandsfähiger als das freie Vitamin sind. Die Dehydroascorbinsäure soll zufolge Borsook und Mitarbeiter (36) auch auf nicht oxydativem Wege eine irreversible Veränderung erleiden können. Da bei den verschiedenen Reaktionen, in welche die Ascorbinsäure verwickelt werden kann, vor allem Enzyme eine entscheidende Rolle spielen dürften, sei auf eine diesbezügliche Zusammenfassung durch Tauber (480) hingewiesen.

Die leichte irreversible Veränderung durch Oxydation macht es verständlich, daß durch H_2O_2 ein Unwirksamwerden der Ascorbinsäure eintritt, das zufolge Török (491) durch Katalase verhindert werden kann. Da die Anaerobier zumeist keine Katalase bilden, wird bei diesen Mikroben das Vitamin C durch Unschädlichmachung des durch Dehydrierung entstandenen H_2O_2 ein anaerobes Wachstum ermöglichen. So konnten Kligler und Guggenheim (195) beobachten, daß Zugabe von Ascorbinsäure zur Nährlösung das Wachstum von Clostridium Welchii bei Luftgegenwart begünstigt; hierbei kann freilich auch das Redoxpotential der Ascorbinsäure unmittelbar eine Rolle spielen, indem dieses Vitamin ähnlich dem Cystein die Mikrobenzellen vor dem Luftsauerstoff schützt [Ehrismann (88)]. Ein solcher Zusammenhang zwischen Ascorbinsäure und Oxydationsvergängen konnte auch durch Morell (295) an der Dehydrogenase des Bact. coli sichergestellt werden.

Die Unschädlichmachung des H_2O_2 wird nach Tauber (477) durch Peroxydase bei Gegenwart von Verbindungen bewirkt, die zur Bildung von Chinonen befähigt sind; die gebildeten Chinone werden durch die Ascorbinsäure reduziert, worauf die so entstandene Ox-Form der letzteren durch Glutathion wieder eine Rückführung in die Red-Form erfährt. Auf die innigen Wechselbeziehungen zwischen Ascorbinsäure und SH-Systemen soll weiter unten bei den letzteren näher eingegangen werden. Die schützende Wirkung von Hefe auf Ascorbinsäure vor Hitzeschädigung kann nach Eidelman (89) jedoch nicht nur durch den Glutathiongehalt bedingt sein, da diese Wirkung durch Kochen der Hefe größtenteils verloren geht.

Die Ascorbinsäure arbeitet nicht nur in Kopplung mit SH-, sondern auch mit Fe-Systemen, so mit verschiedenen Chromogenen, und zwar derart, daß sie den H an diese weitergibt [Lemberg und Mitarbeiter (251)]. Es scheinen demnach Ascorbinsäure, Peroxydase, Katalase (126) und wahrscheinlich auch SH-Verbindungen ein kombiniertes Redoxsystem zu bilden, daß bei den Hydrierungs- und Dehydrierungsprozessen der Zelle eine bedeutsame Rolle spielt.

b) Die Wirkung der Ascorbinsäure auf Organismen.

Im höheren tierischen Organismus verhindert die Ascorbinsäure das Auftreten des Skorbuts und erhöht die Resistenz gegen bakterielle Infektionen.

Was ihre Wirkung auf Mikroorganismen anbelangt, begünstigt sie — wie oben bereits erörtert wurde — das Wachstum obligater Anaerobier und ermöglicht ein solches — ähnlich dem Cystein — auch bei Gegenwart von Luftsauerstoff (88, 195). Auf geschädigte und erschöpfte Zellen von Streptococcus lactis zeigte Ascorbinsäure in den Versuchen von Rahn

und Hegarty (362) eine stark anregende Wirkung; eine Wachstumsförderung bei Kokken konnten auch Sartory und Mitarbeiter (386 a) beobachten. Bei der Milchsäuregärung soll das Vitamin C vorwiegend in die reversible Ox-Form übergehen, aus der es aber z. B. durch H_2S wieder regeneriert werden kann [Nowotelnow und Wadowa (335)]. — Tkatschenko (488) hingegen konnte durch anaerobe Einwirkung von Bact. Leichmannii bzw. Thermobact. acidophilum eine Hydrierung der Dehydroascorbinsäure zu Ascorbinsäure beobachten, so daß demnach dieses reversible System die Rolle eines H-Acceptors übernahm.

Auf aerobe Bakterien, wie Bact. coli, Aerobacter aerogenes und Bact. subtilis wirkte die Ascorbinsäure in Versuchen von Guha und Gupta (133) entwicklungshemmend, während sich bei Pilzen, wie Aspergillus- und Saccharomyces-Arten, eine Förderung des Wachstums zeigte; auch die Virulenz von Krankheitserregern, wie z. B. von Diphtheriebakterien, wird zufolge Gagyi (120) durch Vitamin C stark herabgedrückt. Das Gärungsvermögen hingegen erfährt nach den Feststellungen von Arloing und Mitarbeiter (12) bei septischen Vibrionen und beim Bact. coli eine Steigerung. Hämolytische Coli- und Paratyphus-B-Bakterien zerstören das Vitamin C durch Oxydation [Stepp und Schroeder (457); Stepp, Kühnau und Schroeder (456)], auch andere Bakterien, wie z. B. Str. mucosus und Enterococcus bauen dieses Ergon ab, wobei Glucose hemmend wirkt [Kendall und Chinn (187)]. Außer manchen Darmbakterien verursachen ferner aerobe Sporenbildner, die häufig in Nahrungsmitteln auftreten, eine — meist reversible — Oxydation der Ascorbinsäure (166 a). Während Leitner (250) an Tuberkelbazillen bei Zusatz von Ascorbinsäure ein schnelleres und kräftigeres Wachstum beobachten konnte, stellten hingegen Boissevain und Spillane (32) mit synthetischer Ascorbinsäure in vitro eine Hemmung des Wachstums dieser Bakterien ohne augenscheinliche Herabminderung der Virulenz fest. Auch Heise und Steenken (155) nahmen eine Änderung des Wachstumscharakters der Tuberkelbazillen bei gleichbleibender Virulenz wahr.

Auf das Tabakmosaikvirus wirkt Ascorbinsäure nach Lojkin (266) bei neutraler Reaktion und bei Gegenwart von Cu-Ionen inaktivierend, wobei sie selbst eine Autoxydation erfährt; es wird angenommen, daß unter dem katalytischen Einfluß des Kupfers ein Peroxyd der Ascorbinsäure entsteht, vielleicht auch ein Cu-Ascorbinsäure-Peroxyd als Zwischenprodukt auftritt.

C. Zoohormone als Mikroben-Ergone.

Von zusammenfassenden Darstellungen über Zoohormone seien genannt: Laquer (242), Bomskov (34), Bredereck und Mittag (45), Collin (61).

Was den Einfluß von Zoohormonen auf die **Hefe**-Sprossung anbelangt, ist eine begünstigende Wirkung von verschiedenen Forschern, wie Hamasaki (141), Imschenetzki (174) und Weber (498), dem Thyroxin zugesprochen worden. Ähnlich sollen zufolge Hamasaki (141) Pituitin, Oophormin, Testglandol und Adrenalin wirken; das letztere hat in Versuchen von Imschenetzki (174) an Saccharomycodes Ludwigii Formveränderungen und Anreicherung von Fett verursacht. Denselben Einfluß wie das Thyroxin — nämlich Sprossungsbegünstigung bei 2 Rhodotorula-Arten von 8 untersuchten Sproßpilzen — ergaben zufolge Weber (498) auch kristallisierte Präparate von Follikelhormon, vom Benzoat des Dihydrofollikelhormons, von Testosteron, Androsteron und Insulin, wobei die günstige Wirkung des Follikelhormons durch gleichzeitige Gabe gewisser Mineralstoffe, wie vor allem Zink, gesteigert werden soll [Bertrand und Weber (26)]. Lund (270) hingegen konnte keinen Einfluß des Follikelhormons auf Sacch. cerevisiae bzw. Asp. niger feststellen.

Eine Absorption von Insulin durch lebende Hefen in physiologischer Kochsalzlösung konnten Rosenthal und Kamlet (382) beobachten.

In den durch Moreau (292, 293, 294) ausgeführten Versuchen mit **Pilzen** der Gattung Neurospora zeigte Adrenalin eine fördernde Wirkung und zwar nicht nur auf die Ausbildung des Myzels, sondern auch auf jene der Sklerotien und Perithezien.

Unsere Kenntnisse über den Einfluß der Zoohormone auf das **Bakterien**-Wachstum sind äußerst mangelhaft. Versuche an Bact. coli ergaben, daß dessen Wachstum durch Pituglandol und anscheinend auch durch Paraglandol beschleunigt wird, während Suprarenin hemmend wirkte; mit Thymoglandol und Insulin konnte keine deutliche Beeinflussung erzielt werden [Koshiro (229), vgl. auch (405)]. Hoden- und Nierenextrakte sollen nach Pijoan (356) das Infektionsvermögen der Bakterien steigern, Milzextrakte aber es herabsetzen. Wie Schmidt und Tuljtschinskaja (405) feststellten, wird Insulin gemäß seinem Eiweißcharakter durch proteolytisch wirkende Bakterien zerstört und kann daher auf diese keinen Einfluß ausüben. Wohl aber konnten Cornil und Ranque (64) bei Pneumokokken eine erhebliche Steigerung von Wachstum und Virulenz durch Insulinzusatz beobachten.

Bei **Grünalgen** ergab sich in den Versuchen von Amlinsky (7) durch Zugabe von Thyreocrin in niedrigen Dosen eine geringe Wachstumsbeschleunigung, in mittleren eine schwache Wachstumshemmung aber Stimulation der Reifung der Zoosporen und in hohen Dosen eine starke Hemmung des Wachstums, wobei im letzteren Falle jedoch bei Cladophora fracta die Ausbildung der Fruktifikationsorgane gefördert wurde. Da mit Jod ganz ähnliche Resultate zu erhalten waren, dürfte der Jod-Gehalt des Thyreocrins entscheidend sein.

Infusorien — vor allem Paramaecium caudatum — zeigen unter dem Einfluß von Thyreodin Gestaltsänderungen und Aufquellung; auch steigt die Zahl der Vakuolen unter Verlangsamung der Pulsation. Prolan wirkt ähnlich, jedoch findet keine Quellung statt [Wichko-Filatowa (505)].

Haben wir im vorstehenden den Einfluß von Zoohormonen auf Mikroorganismen betrachtet, so lassen sich andererseits nach Patenten der I. G. Farbenindustrie A.-G. (169) durch Kultur von Mikroben — vor allem von Bakterien der Coli-Gruppe — auf Zellpreßsäften oder Extrakten Lösungen gewinnen, die eine Zoohormonwirkung ausüben, indem sie die Zellvermehrung von explantierten Warmblütlerzellen stimulieren. Hierbei wird derart verfahren, daß man zunächst aus den Kulturen die Mikroben abtrennt und das Filtrat entweder direkt oder nach entsprechender Einengung mit einem organischen Lösungsmittel auszieht, letzteres entfernt und den Extrakt auf einen bestimmten Wirkungswert einstellt (170). Außer mit Bact. coli wurde dieses Verfahren auch mit Bact. vulgare sowie mit Mucor mucedo und Rhiz. reflexus ausgeführt.

D. Die Pyridinsysteme.

1. Die Wirkung der Nicotinsäure und ihrer Derivate.

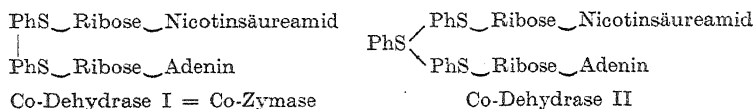
Als Nicotinsäure wurde durch Mueller (298, 299) ein aus Leber mit heißem Wasser extrahierbarer Wuchsstoff erkannt, der das Wachstum von Diphtheriebazillen begünstigt. Der gleiche Pyridinabkömmling konnte ferner in Konzentraten eines Wachstumsfaktors für Staphylococcus aureus durch Holiday (163) auf spektrographischem Wege nachgewiesen werden. Es ergab sich dann durch die Untersuchungen von Knight (196, 197, 200), daß neben dem Thiamin Nicotinsäureamid zum aeroben Wachstum dieser Kokkenart nötig ist. Die Wirkung dieses Ergongemisches läßt sich zufolge Kögl (204) durch Biotinsäuremethylester stark erhöhen. Wie Landy (241) gezeigt hat, ruft Nicotylglycin bei St. aureus die gleiche Wachstumswirkung wie Nicotinsäure hervor.

Nicotinsäure zeigte ferner in Versuchen von Rahn und Hegarty (362) eine fördernde Wirkung auf die Milchsäurebildung von gewaschenen Zellen des Streptococcus lactis in 2proz. glucosehaltiger Phosphatpufferlösung. Auch Bact. vulgare bedarf nach Fildes (108) im

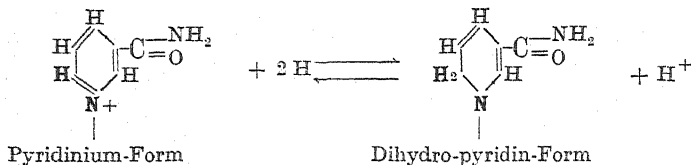
Gegensatz zu Bact. coli der Nicotinsäure, um sich auf einem Ammoniumlactat-Nährboden vermehren zu können. Ferner wurde eine Wuchsstoffwirkung dieser Säure sowie einiger ihrer Derivate in synthetischer Nährlösung auch bei Dysenteriebakterien ermittelt [Dorfman, Koser und Saunders (80, 228)]; dabei erwies sich die Gegenwart bestimmter Aminosäuren als nötig. Hiermit in Einklang stehen die Feststellungen von Kligler und Grosowitch (194), denen zufolge Bact. dysenteriae und Bact. paratyphosum A auf einem Mineralsalz-Pepton-Nährboden Glucose nur dann verwerten können, wenn ihnen Nicotinsäure (10 γ je Kubikzentimeter) geboten wird.

In allen den angeführten Fällen wird die Nicotinsäure offenbar zur Synthese der Co-Dehydrasen benötigt, da diese Nicotinsäureamid neben Adenin in einem Nucleotid-Di- bzw. Tri-Phosphat gebunden enthalten [Euler, Myrbäck und Mitarbeiter (102), Warburg und Christian (496)].

```
PhS‿Ribose‿Nicotinsäureamid            ╱PhS‿Ribose‿Nicotinsäureamid
|                                   PhS
PhS‿Ribose‿Adenin                      ╲PhS‿Ribose‿Adenin

Co-Dehydrase I = Co-Zymase                 Co-Dehydrase II
```

Nach Euler und Mitarbeiter (101) sind die beiden Co-Dehydrasen zu den wasserlöslichen Vitaminen zu rechnen.

Die Co-Dehydrasen vermitteln mit ihrem stark negativen Redoxpotential die Verwertung der Kohlenhydrate als Energiequelle. Als reversibles Redoxsystem ist das Nicotinsäureamid wirksam; mit dem positiv aufgeladenen fünfwertigen Stickstoff des Pyridinrings vermittelt dasselbe die Wasserstoffübertragung an einen Zwischenakzeptor (496).

```
      H                                    H
   H╱ ╲ C—NH₂                           H╱ ╲ C—NH₂
   |   ‖ C=O        + 2H ⇌              |   ‖ C=O         + H⁺
   H╲ ╱H                                H₂╲ ╱H
     N+                                    N
     |                                     |
Pyridinium-Form                   Dihydro-pyridin-Form
```

2. Die Wuchsstoffe der Hämophilen (201, 444, 9).

Durch die Untersuchungen von Thjötta und Avery (486) war bekannt geworden, daß manche Hämophilen — so Hämophilus influenzae — zum Wachstum 2 Faktoren benötigen, den V- und den X-Faktor. Beide finden sich in roten Blutkörperchen, in Kartoffeln, Tomaten, Fisolen, grünen Erbsen, in Hefeextrakten sowie in der Schleimsubstanz des Friedländerschen Pneumobakteriums vor; ferner zufolge Avery und Morgan (14) auch in Bananen, gelben und weißen Rüben, Karotten, Runkelrüben und Pastinaken. Während der hitzebeständige X-Faktor bald als Hämin-System erkannt wurde [Kollath (216, 218)], hielt man den durch Erhitzen im Autoklaven zerstörbaren Faktor V anfänglich für ein wasserlösliches Phosphatid (220), dann für ein SH-System (221), schließlich für Ascorbinsäure, zumal derselbe ähnlich den genannten Systemen anaeroben Bakterien bei Luftzutritt Entwicklung ermöglicht.

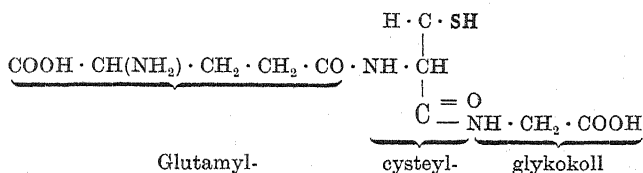
Wie sich jedoch durch die Untersuchungen von A. und M. Lwoff (273) ergeben hat, gleicht dieser V-Faktor der Hämophilen im Wesen einer Co-Dehydrase. Hierfür spricht die Ähnlichkeit in den chemischen Eigenschaften und in der raschen Zerstörung beider in alkalischer Lösung bei 100°, während in saurem Milieu erhebliche Resistenz besteht; auch üben die Co-Dehydrasen in starker Verdünnung die gleiche Ergonwirkung auf H. parainfluenzae aus wie der Faktor V. Hiermit im Einklang steht auch die Tatsache, daß die genannte Bakterie eine geringe Dehydraseaktivität aufweist, wenn ihre Vermehrung infolge Mangel an Faktor V stark ein-

geschränkt ist. Als Maßstab für die wirksame Co-Dehydrasemenge der Bakterien dient der Index der Co-Dehydrase-Aktivierung (I. C. A.), d. i. das Verhältnis der Zeit der Methylenblaureduktion ohne Co-Dehydrase zur Reduktionszeit in Gegenwart dieses Agons (274). Wahrscheinlich sind die Bakterien fähig, die Reaktion Nucleotid-Pyridino-Diphosphat → Nucleotid-Pyridino-Triphosphat sehr rasch vor sich gehen zu lassen, sofern ihnen Co-Dehydrase geboten wird. Letztere dürfte in den Bakterien in 2 Formen vorkommen: in einer freien, die sich leicht umwandeln kann und in einer gebundenen Form, bei der die Umwandlung nicht oder nur sehr langsam erfolgt (274).

E. Die Sulfhydrilsysteme.

Wie wir heute wissen, spielen die organischen Schwefelsysteme im Wirken der Enzyme [Bersin (24, 25)] und auch im Lebendgeschehen der Organismen eine bedeutsame Rolle. Als biologisches Sulfhydrilsystem kommt vor allem das Glutathion in Betracht, das sich insbesondere in der Bierhefe reichlich vorfindet — nach Schülein (438) in einer Menge von 6 bis 6,5 mg je Gramm Trockensubstanz — und zufolge Hopkins (165) die Zusammensetzung eines Glutamyl-cysteyl-glykokolls aufweist.

$$\underbrace{COOH \cdot CH(NH_2) \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO}_{\text{Glutamyl-}} \cdot NH \cdot \underset{\substack{|\\ C\overset{=O}{-}}}{\overset{\substack{H\cdot C\cdot SH\\ |}}{CH}}\; \underbrace{NH \cdot CH_2 \cdot COOH}_{\text{glykokoll}}$$

(cysteyl-: $NH \cdot CH(CH_2SH) \cdot C{=}O$)

Das wirksame Redoxsystem stellt so wie im Cystein die SH-Gruppe dar, die bei schwach alkalischer Reaktion zur SS-Gruppe oxydiert wird; die Reduktion der SS-Verbindung zur SH-Form findet nur in saurer Lösung statt. Die SH-Systeme sind jedoch nicht reversibel, was schon daraus hervorgeht, daß ihre Elektrodenpotentiale nur von der Konzentration der SH-Form, nicht aber von jener der SS-Form abhängen.

Die Sulfhydril-Verbindungen beeinflussen den Kohlenhydratabbau; denn wie Lohmann (264) ermittelt hat, stellt das Glutathion in der SH-Form ein Komplement der Glyoxalase dar. Dieses Enzym katalysiert die Überführung von Methylglyoxal in Milchsäure; das Glutathion bindet sich an das Substrat unter Bildung eines reaktionsfähigen Halbmercaptals. Da die SH-Gruppe durch Monojodessigsäure zerstört wird, hemmt letztere die Glyoxalasewirkung.

Aber auch für andere Enzyme sind die SH-Systeme von Bedeutung, so für die Urease, das Pepsin und das Kathepsin [Purr (361)], die übrigens alle selbst SH-Gruppen im Molekül enthalten; beim Papain ist zufolge Bersin (24) die Aktivität sogar von der Zahl der SH-Gruppen im Enzymmolekül abhängig. Euler (98) hat darauf hingewiesen, daß die genannten Enzyme alle auf Substrate wirken, die die Carbamidgruppierung – CO · NH – enthalten, an die sich bei der enzymatischen Spaltung das Enzym mit seiner SH-Gruppe möglicherweise anlagert.

Daß auch für die hämolytische Tätigkeit von Bakterien die Gegenwart von SH-Gruppen nötig ist, haben Cohen und Schwachman (60) am Pneumokokken-Hämolysin wahrscheinlich gemacht.

Eine ausgesprochene Wirkung nach dem Redoxpotential scheinen die organischen Schwefelverbindungen auf Hefe auszuüben; so sollen bei Sacch. cerevisiae Cystein und Glutathion in der SH-Form fördernd auf die Gärung, aber hemmend auf das Wachstum wirken, während den SS-Verbindungen ein gegenteiliger Einfluß zugesprochen wird [Mezzadroli und Vicentini (281)]. Den fördernden Einfluß der SH-Verbindungen auf die aerobe Gärung bei gleichzeitiger Hemmung von Atmung und Vermehrung konnten auch Runnström und Sperber (385) bestätigen. In Ver-

suchen mit Propionibacterium pentosaceum stellte jedoch Chaix (57) fest, daß mittels Glucose bei $p_H = 8{,}6$ reduziertes Cystin nicht nur die anaerobe und vor allem die aerobe Gärung stark fördert, sondern zumeist auch die Atmung etwas steigert. Die Bedeutung der SH-Verbindungen für das anaerobe Mikrobenwachstum hat schon früher Kollath (221) beim Influenzabazillus erkannt; es wird nämlich durch die SH-Gruppe den Anaerobiern ein Wachstum bei Luftzutritt ermöglicht.

Das reduzierte Glutathion wirkt aber anscheinend auch unmittelbar auf die Zellteilung; so erfährt es bei dieser eine Anreicherung in den Mitochondrien und ferner spricht auch die teilungsfördernde Wirkung einer Zugabe von Verbindungen mit SH-Gruppen auf Gewebskulturen hierfür [P. György (138)]. In diesem Zusammenhang wäre auch darauf hinzuweisen, daß nach Versuchen von Rapkine (363) an Schizosacch. Pombe die durch Monojodessigsäure oder Jod bewirkte Zellteilungshemmung durch Glutathion in der Red-Form größtenteils wieder aufgehoben wird, während Serin, Cystein oder Thioglucose hierzu nicht befähigt sind. Der genannte Forscher nimmt daher an, daß in einem bestimmten Vorstadium der Zellteilung Verbindungen mit freien SH-Gruppen gebildet werden. Eine wachstumsfördernde Wirkung des Glutathions konnten übrigens auch Guha und Gupta (133) bei Schimmelpilzen, und zwar bei Aspergillus-Arten, beobachten.

Wie bereits oben bemerkt wurde, bestehen zwischen den Sulfhydrilverbindungen und der Ascorbinsäure tiefgehende Wechselbeziehungen. So ist das Vitamin C imstande, die SH-Form der genannten Verbindungen vor der Dehydrierung zur SS-Form zu schützen. Andererseits vermag Glutathion in ausreichender Konzentration zufolge Hopkins (166) die Ascorbinsäure vor der durch Spuren von Lactoflavin geförderten photokatalytischen Oxydation zu bewahren. Das reduzierte Glutathion ist sogar imstande, die reversible Ox-Form der Ascorbinsäure zu reduzieren [Borsook und Mitarbeiter (37, 38)], wobei diese Beeinflussung zufolge Kertesz (190) vom p_H abhängig ist; diese Hydrierung der Dehydroascorbinsäure wird übrigens auch durch andere SH-Verbindungen bewirkt [Ghosh (121)]. Die Hemmung der Autoxydation der Ascorbinsäure durch Thiole, Disulfide und Thioäther soll zufolge Ghosh und Rakshit (122) dadurch zustande kommen, daß sie die energiereichen Sauerstoffmoleküle infolge Bildung von Komplexkörpern durch zusätzliche Valenzelektronen inaktivieren.

F. Die Häminsysteme.

Näheres über den Chemismus dieser Systeme kann bei Fischer, Treibs und Zeile (112a), über die physiologische und enzymologische Seite aber bei Oppenheimer (338) in Erfahrung gebracht werden.

Die Hämine sind Ferri-Verbindungen der Porphyrine, die ihrerseits Derivate des Porphins darstellen; letzteres besteht aus 4 Pyrrolringen, die durch je eine CH-Brücke — im ganzen also durch 4 Methingruppen — verbunden sind. Die entsprechenden Ferro-Verbindungen werden Häme genannt; diese weisen eine äußerst geringe Beständigkeit auf und werden an der Luft rasch zu Häminen oxydiert [Fischer, Treibs und Zeile (112a)]. Von solchen Häminsystemen können in den Mikrobenzellen die folgenden angetroffen werden.

1. Katalase und Peroxydase.

Diese beiden Enzyme wirken auf H_2O_2 hydrierend. Übernimmt hierbei ein zweites Molekül H_2O_2 die Rolle des Wasserstoffdonators, wobei Sauerstoff entweicht, so liegt Katalase-Wirkung vor; gibt aber irgendeine andere Substanz — meist sind es Chromogene — Wasserstoffatome ab, so spricht man von einer Peroxydase. In beiden Fällen wird das Wasserstoffsuperoxyd zu 2 Molekülen Wasser hydriert.

Katalase und Peroxydase sind Häminverbindungen, und zwar sollen beide das gleiche Agon, nämlich das Protohämin [Hämin IX nach Fischer und Seemann (112 b)] enthalten; dieselbe Verbindung findet sich auch im Hämoglobin des Blutes und im Cytochrom vor.

2. Das Cytochrom-System.

Das in den Zellen weit verbreitete Cytochrom [Keilin (186)] stellt ein Gemisch von 3 eisenhaltigen Redoxsystemen a, b und c dar, die — wie bereits bemerkt — ebenfalls Hämin IX enthalten und deren reduzierte Formen charakteristische Absorptionsbanden aufweisen, die den oxydierten Formen fehlen. Eine Isolierung gelang aus Bäckerhefe, und zwar bei Cytochrom c (185, 534) und Cytochrom b (530). Zufolge Coolidge (62a) ist das Redoxpotential des Gesamtsystems in künstlichen Lösungen dasselbe wie in der Hefezelle, nämlich + 260 mV; dies entspricht einem rH_2-Wert, der innerhalb der von Toeuf (490) angegebenen Grenzen von 18,3 und 19,9 liegt [vgl. aber (129)]. Nach Tamiya und Ogura (472) sollen die Normalpotentiale vom Cytochrom c über a nach b fallen, so daß demnach das Cytochrom b unmittelbar mit den zu dehydrierenden Substanzen reagieren müßte. Die 3 Cytochrom-Komponenten finden sich in wechselnden Mengen in den verschiedensten Mikroorganismen vor, so in Sproßpilzen (110a, 492a, 98), Schimmelpilzen (471 a) und Bakterien (472 a). Nach Elvehjem (93 a) fördert bei Hefen ein Zusatz von Fe- oder Cu-Salzen zum Nährmedium die Cytochrombildung unter Bevorzugung der a-Komponente.

3. Das Fermenthämin nach Warburg.

Dieses stellt ein an die Zellstruktur verankertes Atmungsenzym vor, das in allen aeroben Organismen anzutreffen ist. Es überträgt den aktivierten Wasserstoff nur an den Luftsauerstoff, wirkt demnach als Oxydase. Sein Agon soll zufolge Warburg einen dem Spirographishämin analogen Bau haben. Daß Mikroben, die über das Fermenthämin verfügen, wie dies beim Microbact. flavum zutrifft, wesentlich intensiver zu atmen vermögen, als solche, die — wie Thermobacterium und Streptobacterium — nur das „gelbe Ferment" besitzen, hat Hansen (143) experimentell erwiesen.

Der obenerwähnte Faktor X der Hämophilen dürfte dem Hämin IX nahestehen oder mit diesem identisch sein. Denn bei Züchtung des Influenzabazillus auf Peptonwasser mit Zusatz von viel Hefeextrakt (Faktor V) und gelöstem Kaninchenblut wirkt zufolge Lwoff (276) das Hämin des Blutfarbstoffs atmungssteigernd; ähnliches ist auch bei den Trypanosomen der Fall. Wie Snyder und Broh-Kahn (451) feststellten, kann das Hämin bei der aeroben Kultur von Hämophilus influenzae durch Cystein ersetzt werden; daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß dem Hämin die Aufgabe zufällt, das unter aeroben Verhältnissen entstehende H_2O_2 unschädlich zu machen.

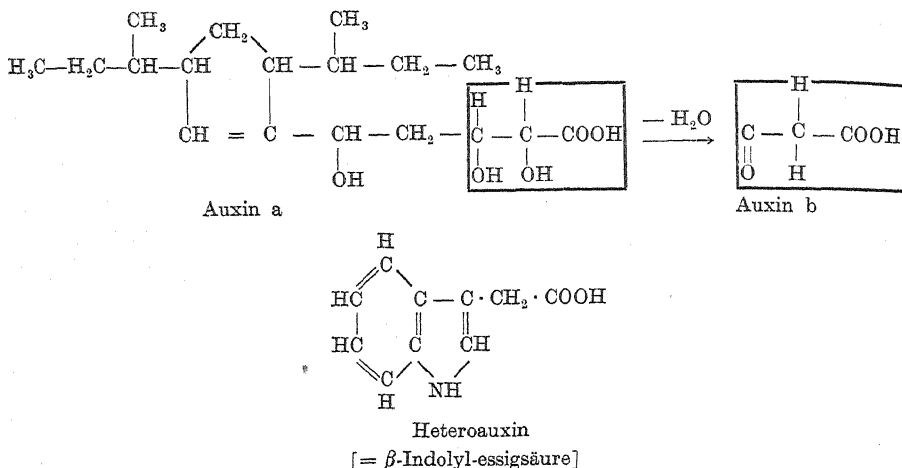
G. Die Wuchsstoffe der A-Gruppe.

Zu den Ergonen der A-Gruppe sind außer den fettlöslichen Vitaminen auch noch die A-Wuchsstoffe nach Nielsen (307) zu rechnen. Diese sind durch Thermoresistenz, leichte Zerstörbarkeit durch Oxydationsmittel sowie insbesondere durch Ätherlöslichkeit gekennzeichnet. Hierher gehören vor allem die Streckungswuchsstoffe der höheren Pflanzen (Auxine a und b sowie Heteroauxin), die auf die „Avena"-Coleoptile wirken und über die bei Boysen-Jensen (42), Otte (346), Schlenker (404), Went und Thimann (501), Nicol (305) sowie bei Haagen-Smit (138 a) näheres in Erfahrung gebracht werden kann, sowie ferner einige Mikroben-Ergone, die wahrscheinlich dem Heteroauxin nahestehen.

1. Vorkommen der Auxine.

```
     CH3   CH2        CH3
      |   /    \       |
H3C—H2C—CH—CH      CH — CH — CH2 — CH3
            |       |              ┌──── H ─────┐                ┌──── H ─────┐
            |       |              │H    |      │     — H2O      │     |      │
            CH  =   C  —  CH — CH2—│C  — C—COOH │  ──────────>   │C — C — COOH│
                          |        │|    |      │                │||   |      │
                          OH       │OH  OH      │                │O    H      │
                                   └────────────┘                └────────────┘
        Auxin a                                                    Auxin b

                     H
                     C
                  //   \
                HC      C — C · CH2 · COOH
                 |      ||   ||
                HC      C    CH
                  \\  /   \  /
                     C     NH
                     H
```

Heteroauxin
[= β-Indolyl-essigsäure]

Die echten Auxine (Auxin a und b), deren Konstitution durch Kögl und Erxleben (205) aufgeklärt wurde, scheinen sich nur bei den höheren Pflanzen vorzufinden, während das Heteroauxin, das Kögl und Mitarbeiter (209) als β-Indolyl-Essigsäure erkannten, auch in Mikroorganismen anzutreffen ist (225 a, 436 a, 483).

Es konnte außer in Hefe (308) auch in vielen Hyphenpilzen aufgefunden werden, so in Rhiz. nigricans (207, 213), Rh. Delemar, Rh. tritici, Rh. reflexans (207), Rh. suinus (307, 78, 483) und Absidia ramosa (307) sowie ferner in Penicillium sp. (136), Asp. niger (41, 213), Phycomyces nitens (158), Phoma sp. (40) und Boletus edulis, nicht hingegen in Psalliota campestris (309). Auch bei Algen (500) sowie in vielen Bakterien ist es nachzuweisen, so zufolge Link (259) in Knöllchenbakterien, nach Link und Mitarbeiter (260) in Bact. tumefaciens und nach Rasnizina (364) besonders reichlich in Azotobacter chroococcum, Mycobact. album, Pseudomonas fluorescens, Sarcina lutea und Bact. vulgare.

Nach den Angaben von Brown und Gardner (47) sowie Link und Mitarbeiter (260) soll Heteroauxin bei verschiedenen Pflanzen eine mit der durch Bact. tumefaciens bewirkte gleichartige Gallenbildung verursachen, was jedoch von Levine und Chargaff (258) bestritten wird.

Da vor allem bei Zusatz von Pepton-Witte, das viel Tryptophan enthält, reichlich ätherlöslicher Wuchsstoff gebildet wird (209), und Durchlüften der Kultur günstig wirkt, besteht zufolge Thimann (483) große Wahrscheinlichkeit, daß die Indolessigsäure durch oxydative Desaminierung des Tryptophans entsteht.

Das Heteroauxin kann nach Kögl und Mitarbeiter aus Harn (209) oder aus Hefe (213) dargestellt werden. Seine Wirkung auf das Streckungswachstum der höheren Pflanzen — zu der auf jeden Fall die Doppelbindung im Ring nötig ist — läßt sich mittels der Avena-Coleoptile oder durch den Bohnen-Test nachweisen; eine Mikromethode verdanken wir Boysen-Jensen (43).

2. Wirkung der Auxine auf Mikroorganismen.

Eine Ergonwirkung der echten Auxine auf Mikroorganismen war weder bei Hefe (214) noch bei Pilzen (381) zu beobachten.

Um eine solche könnte es sich aber möglicherweise bei jenem Stimulationseffekt handeln, den Extrakte aus Koleoptilspitzen und anderen Organen von Maispflänzchen in den Versuchen von Popoff (357) auf die Zellteilung von Euglena gracilis

ausübten. Ein gleiches dürfte auch von jener durch Leonian (253) festgestellten Wachstumsbegünstigung von Phytophthora cactorum in mineralischer Nährlösung + Glucose gelten, die bei Hinzufügung einer aseptisch gewonnenen Maiskeimwurzel oder einer filtrierten Minerallösung, auf der gewisse Algen, wie Coccomyxa simplex oder Oocystis Naegelii gewachsen waren (254), beobachtet werden konnte.

So wie die echten Auxine zeigte in den Versuchen von Kögl und Tönnis (214) auch das Heteroauxin auf das Sproßvermögen der Heferasse M keinen Einfluß.

Loofbourow und Dwyer (267) konnten bei Sacch. cerevisiae sogar eine wachstumshemmende Wirkung feststellen; nach 24stünd. Verweilen der Hefe in auxinhaltiger Nährlösung ließ sich aber aus letzterer ein Konzentrat eines die Hefevermehrung begünstigenden Ergons gewinnen, das die beiden genannten Forscher als Wundhormon betrachten. Auch Schopmeyer (435) konnte einen auf Hefe wirksamen Aktivator dieser Gruppe erhalten, und zwar aus Kulturen von Asp. niger und Asp. clavatus.

Auf das Wachstum von Schimmelpilzen, wie Asp. niger und Rhizopus suinus, wirkt Heteroauxin zufolge Thimann und Dolk (484) fördernd; dieser Beobachtung stehen jedoch gegenteilige Befunde anderer Forscher gegenüber.

Der beobachtete Einfluß des Heteroauxins auf Schimmelpilze läßt es als möglich erscheinen, daß jener ätherlösliche und auf die Avena-Coleoptile wirkende Wuchsstoff, der in dem durch Nielsen (307, 319) aus Kulturen von Rhizopus suinus und Absidia ramosa sowie aus Preß- und Brauerhefe (308) gewonnenen Ergongemisch „Rhizopin“ enthalten ist, sich mit Heteroauxin identisch erweist, wogegen freilich die Versuchsergebnisse von Janke und Sorgo (177 a) sprechen.

Die durch Itzerott (175 b) beobachtete starke Förderung des Wachstums von Ustilago zeae durch Koleoptilenextrakt ist offenbar auch auf Heteroauxin zurückzuführen.

Bildung und Wirkung des Heteroauxins bei den Schimmelpilzen scheint mit der Fruktifikation im Zusammenhang zu stehen.

So soll dieses Ergon zufolge Bünning (48) bei Asp. niger die Konidienbildung fördern oder sogar erst ermöglichen und bei Rhiz. suinus soll nach Thimann und Dolk (484) dieser Wuchsstoff in dem Maße gebildet werden, als die Sporangien entstehen. Auch bei Pyronema confluens wirkt Heteroauxin zufolge Kerl (188) nicht nur auf die Keimung und das vegetative Wachstum, sondern auch auf die Fruchtkörperbildung.

Bonner (35) ist der Ansicht, daß das Heteroauxin primär die Atmung fördert und durch die hierbei produzierte Energie den Asp. niger zur bevorzugten Nitratassimilation befähigt; die so eintretende Erhöhung des p_H-Wertes begünstigt dann die Konidienbildung.

Im Gegensatz zu den mitgeteilten Beobachtungen über keimungsfördernde Wirkungen des Heteroauxins mußte Windisch (525) bei den Ascosporen von Bombardia lunata einen solchen stimulierenden Einfluß vermissen.

Was die Wirkung des Heteroauxins auf Bakterien anbelangt, konnte Ball (15 a) bei Züchtung von Bact. coli in synthetischer Nährlösung, die dieses Ergon in einer Konzentration von 10^{-4} bis 10^{-5} % enthielt, eine doppelt so starke Vermehrung als ohne Wuchsstoffgabe erzielen.

Heteroauxin war offenbar auch das Wirksame in jenem Präparate, das in den Versuchen von Zironi (535) als Zusatz zu Peptonbouillon den Bac. Ducrey rascher wachsen ließ als auf Serumbouillon bei gleicher Virulenz der erhaltenen Stämme und in den Versuchen von Arnaudi (13) das Wachstum von Azotobacter chroococcum beschleunigte und dessen Stickstoffassimilation steigerte.

Die zu vermutende Bildung von Indol bei Einwirkung aerober Bakterien auf Heteroauxin konnte durch Woods (529) nicht beobachtet werden; eine Suspension gewaschener Zellen von Bact. coli führte bei Ein-

wirkung auf β-Indolyl-essigsäure und verwandte Verbindungen nur die β-Indolbrenztraubensäure bei Gegenwart von Ammoniak in einem Ausmaß von 10% in Indol über. Die Bildung von Heteroauxin aus Tryptophan durch Rhizobium-Stämme scheint nach Georgi und Beguin (120 a) mit der Stickstoff-Assimilation der Wirtspflanze in keinem Zusammenhang zu stehen.

Über die Wirksamkeit des Heteroauxins und chemisch verwandter Substanzen auf Algen wie Chlorella- und Oocystis-Arten hat Brannon (44) berichtet; mit Chlorella liegen auch positive Befunde von Yin (531 a) und Pratt (358) vor.

Auch bei Protozoen läßt sich ein fördernder Einfluß des Heteroauxins auf das Wachstum feststellen. So konnte Elliott (92) an Euglena gracilis mit 3-Indol-essigsäure bzw. den betreffenden Verbindungen der Propion- und Buttersäure bei $p_H = 5{,}6$ eine beträchtliche Beschleunigung der Vermehrung beobachten.

Der Wuchsstoffcharakter des Heteroauxins ist aber auch angezweifelt worden. Außer dem bereits mitgeteilten negativen Befunden von Windisch (525) bezüglich einer keimungsfördernden Wirkung dieses Ergons liegt ein solcher auch von Leonian und Lilly (255) vor; diese beiden Forscher behaupten auf Grund langfristiger Versuche mit Heteroauxinzusätzen zu glucosehaltiger Mineralnährlösung unter Verwendung von Pilzen, Algen und Mais, daß die β-Indolyl-essigsäure eher ein das Wachstum hemmender als ein dasselbe fördernder Stoff sei.

3. Andere Wuchsstoffe der A-Gruppe.

Zum Wachstum des Bac. (Clostr.) sporogenes und verwandter Mikroben ist zufolge Fildes (107, 110, 198, 199) neben Aminosäuren ein ätherlöslicher Wuchsstoff nötig, der „Sporogenes-Vitamin" genannt wird. Dieser kann aus Hefe sowie aus Schwangeren- oder Stutenharn gewonnen werden; es soll sich um eine Oxysäure mit einem Molekulargewicht von ca. 200 handeln, deren Methylester im Hochvakuum destillierbar ist (350). Dieser Wuchsstoff soll von allen bekannten Ergonen, demnach auch von den Auxinen, verschieden sein.

Ein gleiches gilt auch von dem wirksamen Faktor in dem durch Leonian und Lilly (256) aus Erbsenextrakt gewonnenen Produkt, der zur Ausbildung der Sexualzellen bei manchen Arten von Pythium und Phytophthora in synthetischen Nährmedien unbedingt benötigt wird.

Um einen besonderen Faktor dürfte es sich auch bei jenem mit Äther aus Hefe extrahierten Wuchsstoff handeln, der zufolge Tatum und Mitarbeiter (476, 528) im Verein mit Aneurin das Wachstum von Propionibact. pentosaceum begünstigt.

Zu den Wuchsstoffen der A-Gruppe ist offenbar auch jener im Hefeextrakt enthaltene Faktor zu rechnen, der in den Versuchen von Virtanen und Hausen (493) das Blühen von Bohnen und Erbsen stimulierte.

H. Die Wuchsstoffe der Bios-Gruppe.

Es handelt sich um wasserlösliche Wuchsstoffe, die vor allem auf Sproßpilze wirken. Da sie der Vitamin B-Gruppe unter den tierischen Wirkstoffen entsprechen, wären sie gemäß einem Vorschlag von Euler und Philipson (103), demzufolge an die Bezeichnung BP (P = Planta, Pflanze) der Name jener Pflanze anzufügen ist, auf die der betreffende Wuchsstoff spezifisch wirkt, mit „BP-Hefe" zu benennen.

1. Die Wirkung von Rohbios.

Im Jahre 1901 hatte Wildiers (506) in Löwen (Belgien) die Beobachtung gemacht, daß die Vermehrung von Hefe in einem synthetischen Nährboden durch Zu-

gabe verschiedener Substrate gesteigert werden kann, und die wirksame Substanz Bios genannt. Dieses ist organischer Natur, in Wasser und in 80proz. Alkohol löslich, jedoch unlöslich in absolutem Alkohol und Äther, dialysabel und wird durch neutrales oder basisches Bleiacetat gefällt; es findet sich mit Vitamin B_1 vergesellschaftet (366, 512). Über Existenz und Eigenschaften dieser Substanz ist ein langwieriger Streit entbrannt, dessen einzelne Phasen durch Kossowicz (232) und in neuerer Zeit durch Tanner (473) und Hasselt (151) geschildert wurden.

Der Bedarf der Sproßpilze an Bios und ihre Fähigkeit zur Bildung desselben scheint mit ihrem Redox-Potential, das sie in den Nährsubstraten aufweisen, im Zusammenhang zu stehen. Solche mit hohem Oxydationspotential, wie die hautbildenden Sproßpilze (z. B. Mycoderma-, Pichia- und Hansenula-Arten) können Bios bilden (231, 76, 63), während die untergärigen Brauerhefen dieses Vermögens ermangeln (230, 240). Wein- und Bäckerhefen stehen in der Mitte, während wilde Hefen sich ähnlich den Hautbildnern verhalten; so können Torulopsis nigra und T. glutinis sowie Sporobolomyces Bios selbst bilden (131). Diese Abhängigkeit des Biosbedarfes von Art und Rasse der Sproßpilze läßt die Forderung nach Verwendung eines bestimmten Hefestammes (nämlich Nr. 578 der A. T. C. C.) in einem definierten Substrat (Medium von Williams) als berechtigt erscheinen (518). Nach Suzuki, Matsusita und Aoki (464) gibt es auch Hefen, die ohne Bios sehr langsam wachsen, dasselbe also anscheinend nur allmählich synthetisieren, während bei Bioszusatz normales Wachstum zu beobachten ist. Hefearten, die den Bios-Komplex nicht zu synthetisieren vermögen, sollen zufolge Schade (388 a) nach Zusatz von Asp. niger-Autolysat hierzu befähigt sein. Wie Hanak und Schwarz (142) zeigten, ist der Bioseinfluß auf die Hefevermehrung von den Milieubedingungen abhängig. Periodische Schwankungen im Biosgehalt der Hefe während der Gärung und eine Abnahme bei der Lagerung stellten Enders und Hegendörfer (95 a) fest.

Die Faktoren der Bios-Gruppe unterscheiden sich zufolge Nielsen und Mitarbeiter (325, 329) von ähnlichen, ebenfalls wasserlöslichen, jedoch auf Schimmelpilze wirkenden Wuchsstoffen dadurch, daß die ersteren durch Oxydationsmittel ($KMnO_4$) leicht zerstört werden und aus den Nährlösungen mittels ruhender Hefe ausgeschüttelt werden können [Nielsen (311)]; hierzu sind vor allem biosarme Sproßpilze, wie Preßhefe oder Mineralhefe, geeignet (325, 329). Wenn Ronsdorf (381) eine stimulierende Wirkung des Bios auf das Wachstum von Schimmelpilzen angibt, so dürfte es sich in diesen Fällen um den Einfluß eines das Bios begleitenden Schimmelpilzfaktors gehandelt haben. Wie Hartelius (148) feststellen konnte, ist Hefe, die wenig Bios und andere Wuchsstoffe enthält, durch eine starke Ausscheidung von Stickstoffsubstanzen ausgezeichnet; ferner zeigt sich zufolge Nielsen (317) bei einer wuchsstoffarmen Hefe die Senkungsgeschwindigkeit erhöht, was auf Verklumpung der Zellen zurückgeführt wird.

Außer auf Hefe soll Bios auch auf manche Bakterienarten wirken; so ließ sich bei Bac. subtilis und Bact. vulgare (453) und ebenso bei Betacoccus cremoris (83) eine Stimulation der Vermehrung beobachten.

2. Methodologisches zur Bestimmung der Bioswirkung.

Für die Bestimmung der Bioswirkung stehen die folgenden Methoden zur Verfügung:

a) Mikroskopisches Auszählen der Hefezellen.
b) Volumetrische Bestimmung der Hefeernte.
c) Ermittlung der Trockensubstanzzunahme.
d) Nephelometrische Bestimmung der Suspensionsdichte.

e) Feststellung der p_H-Verschiebung beim Wachstum der Hefe mit Ammoniumsulfat als Stickstoffquelle.

a) Mikroskopisches Auszählen der Hefezellen.

Die Bestimmung des Zellzuwachses durch mikroskopisches Auszählen kann entweder unter Verwendung einer vielzelligen Aussaat als Makroversuch (Vermehrungsvermögen) oder als Mikroversuch (Tröpfchenverfahren) erfolgen; bei beiden Ausführungsarten kann das Ergebnis auch als Generationsdauer angegeben werden. Für Zwecke der Wirkungsbestimmung von Mikrobenwuchsstoffen ist diese Methode erstmalig durch Janke und Lacroix (177) verwendet worden; in neuerer Zeit hat vor allem das Grazer pflanzenphysiologische Institut dasselbe für Wuchsstoffuntersuchungen benutzt [Almoslechner (5), Teindl-Czech (481), Dagys (66—69)] und für brautechnische Untersuchungen kam es durch Fuchs (115) zur Ausführung. Die Makroausführungsform ergibt bessere Durchschnittswerte als das Mikroverfahren, leidet jedoch an der Ungenauigkeit des Auszählens der Hefe mittels der Zählkammer und an der Beeinflussung der Sprossung durch Wuchsstoffe autolysierter Zellen. Der durch Nielsen (312) gegen die Mikroausführungsform vorgebrachte Einwand, daß die Hefezelle auch durch eigenen Wuchsstoff einen Sproß bilden könne, ist nicht stichhaltig, da dieser Fehler durch Anlage von Kontrollproben ohne Wuchsstoffzusatz ausgeschaltet wird.

b) Volumetrische Bestimmung der Hefeernte.

Diese erfolgt nach der Hämatokrit-Methode derart, daß die Probe in eine Kapillare gefüllt und die suspendierte Hefe durch Zentrifugieren zum Absetzen gebracht wird, worauf aus der Sedimentationshöhe der Hefegehalt der Flüssigkeit errechnet werden kann. Reuter (367), die sich dieser Methode zum quantitativen Bios-Nachweis bediente, wählte jene Wuchsstoffmenge als Einheit, die einer 0,5proz. Boletus-Extraktlösung zukommt und deren Wirkung darin besteht, daß sie den normalen Wachstumsverlauf der Hefe auf das 6fache erhöht.

c) Ermittlung der Trockensubstanz-Zunahme.

Dieses Verfahrens bediente sich vor allem Nielsen (310, 312), und zwar unter Verwendung von Jenaer Glassintertiegeln IG 4. Als zahlenmäßigen Ausdruck benutzte er den Quotienten aus den Trockengewichten der mit Zusatz von Bios und der ohne eines solchen gewonnenen Ernte und bezeichnete diesen mit f. Dieser sog. Nielsen-Faktor ist jedoch — wie Enders und Hegendörfer (95) zeigten — vom Biosgehalt der Testhefen und von der Aussaatmenge abhängig; um nun reproduzierbare Werte für den Wuchsstoffgehalt von Extrakten zu erhalten, arbeiteten die genannten Forscher eine Korrekturmethode aus.

Das Nielsensche Verfahren ist auch bei Schimmelpilzen mit Erfolg benutzt worden, jedoch ist in diesem Falle ein Glassintertiegel IG 3 vorzuziehen.

d) Nephelometrische Bestimmung der Suspensionsdichte.

Die Durchführung dieser Methode kann auf verschiedene Weise erfolgen. So bedienten sich Williams und Mitarbeiter (509) der thermoelektrischen Methode, die auch Kögl und Tönnis (214) benutzten unter Verwendung des Nephelometers von Moll. Letztgenannte Forscher nehmen als Einheit der Bioswirkung die Saccharomyces-Einheit [„SE"] an und verstehen darunter diejenige Menge an Biotin, die im Schüttelthermostaten bei 30° C unter besonderen Milieubedingungen nach 5 Std. eine 100proz. Steigerung der Hefeernte bewirkt. Da sich bei verschiedenen Versuchsreihen mit gleichem Extrakt Unterschiede im Werte der „SE" zeigten, bedient sich Kögl einer Standardlösung (Hefewasser) mit „SE" = 12 und errechnet aus ihrem jeweiligen Wert den Korrekturfaktor für jeden Versuch. Eine andere Art der nephelometrischen Bestimmung ist die photoelektrische Methode, die sowohl Thorne und Bishop (487) als auch Enders und Hegendörfer (95) sowie Schopfer und Mitarbeiter verwendeten. Auch das Pulfrich-Photometer (487, 177a) wurde für die nephelometrische Methode herangezogen, die im übrigen auch für Bakterien anwendbar ist (74).

e) Festellung der p_H-Verschiebung beim Wachstum der Hefe mit Ammoniumsulfat als Stickstoffquelle.

Was diese durch Boas (30) zur Bios-Bestimmung empfohlene und von Gistl (124) angewandte Methode anbelangt, hat Hartelius (147) gezeigt, daß diese Methode nur für hohe Bios-Konzentrationen brauchbare Werte liefert [vgl. auch (370) und (114)].

3. Das Vorkommen von Rohbios.

Die Wuchsstoffe der Biosgruppe sind in der Natur weit verbreitet, auch unter den Mikroorganismen.

Sie konnten aufgefunden werden in den verschiedensten Pflanzenteilen (66), wie ruhenden (314) und keimenden (66, 454) Samen, treibenden Knospen (66), stark wachsenden Blättern (66) und Extrakten aus solchen (29, 67), in der Coleoptilenspitze von Avena (103), in grünen Erbsen und Teeblättern (355), im Hopfen (30) und in Alfalfa (83). Ferner in verschiedenen Pilzen, wie Merulius domesticus (124), Boletus edulis (5), Rhizopus suinus (5, 306, 329), Rh. tritici (103), Asp. Wentii (103), Asp. niger (103, 306, 329, 436), Asp. oryzae (471), Asp. clavatus (436), Pen. Roqueforti (306, 329), Trichoderma lignorum (436), in Konidien von Fusarium (502), in Sproßpilzen, in Bac. vulgatus (132), in Bact. coli (379) sowie in anderen häufig vorkommenden Bakterien (380), in Essigsäurebakterien (177), vielleicht auch in echten Milchsäurebakterien (339), in Handelspräparaten von Pepton (wenig) und von proteolytischen Enzymen (viel) (342), in Lecithin aus Eigelb (179), in Handelssorten von Rohrzucker (226, 119), in Weißzucker (140, 532), in Rübenmelasse (171, 172, 173), in Tierkohle, die zur Zuckerraffination diente (286), im normalen tierischen Gewebe (77), vor allem in Leber (112) [insbesondere Kalbsleber (149)] und Niere, in Kalbfleisch (149) sowie in Fischen (149); ferner auch im Harn (5). Ähnlich wie die Auxine finden sich auch die Bios-Ergone in menschlichen Karzinomen in höherer Konzentration vor als im benachbarten Normalgewebe, ohne daß eine spezifische Bedeutung für das Tumor-Wachstum angenommen wird (210). Ferner entstehen Substanzen mit Bioswirkung bei Druckerhitzung gewisser Nährmedien (117). Eine der wichtigsten Biosquellen jedoch ist die Bierwürze mit einem ziemlich konstanten Wuchsstoffgehalt; dieser erweist sich demnach als unabhängig von der Gerstensorte sowie von den Mälz- und Braumethoden (313) [vgl. auch (26 b)].

4. Die Zerlegung des Rohbios.

Durch die Arbeitskreise von L. Miller (Toronto, Canada), R. J. Williams (Corvallis, USA., Oregon) und F. Kögl (Utrecht, Holland) ist die komplexe Natur des Rohbios nachgewiesen und eine Reindarstellung der einzelnen Fraktionen verursacht worden, die aber bisher nur zum Teil erfolgreich war.

Gänge zur Abscheidung und präparativen Gewinnung der Biosfraktionen haben ausgearbeitet: Miller und Mitarbeiter (287) an Malzkeimen, Narayanan (304) an Bäckerhefe — verbessert durch Wassink (497) — sowie ferner Kögl und Tönnis (214) unter Verwendung von Enteneigelb. Williams und Truesdail (516) haben sich zur Fraktionierung der Elektrolyse bedient.

a) Bios I = inaktiver (oder Meso-) Inosit.

Aus dem Rohbios läßt sich durch Fällung mittels $Ba(OH)_2$ oder Bleiacetat in ammoniakalischer Lösung Bios I abscheiden (283, 268, 269, 84, 446, 106). Zur Gewinnung diente vor allem Teestaub (84) sowie autolysierte oder plasmolysierte Hefe (189, 211, 151); die Reinigung erfolgte über das Hexaacetat. Das so erhaltene Bios I wurde mit dem inaktiven oder Meso-Inosit als identisch erkannt (86, 87, 202). Die Wuchsstoffwirkung desselben auf Hefe ist bei alleiniger Darbietung nur gering. Meso-Inosit ist auch auf Nematospora gossypii als wirksam (52, 50) erkannt (vgl. S. 441) und übrigens durch Anderson und Roberts (10) in der Phosphatidfraktion von Tuberkelbakterien aufgefunden worden.

Das in der Lösung von der Barytfällung verbleibende Bios II kann durch Zusatz von $MgSO_4$ in seiner Co-Wuchsstoffwirkung wesentlich verstärkt werden (118). Für eine ganze Reihe vegetabilischer und tierischer Produkte liegen Bestimmungen über das relative Wirkungsverhältnis zwischen Bios I und Bios II vor (84, 85, 86, 87), ferner auch für verschiedene Sproßpilze (455, 257). Acetylderivate von Bios II hat Sparling (452) hergestellt und dieselben auf das Hefewachstum unwirksam befunden.

b) Bios II B oder Biotin.

Bios II B (nach Miller) oder Biotin (nach Kögl) kann aus der Bios II enthaltenden Lösung nach Entbleiung derselben durch Adsorption an Tierkohle und Elution des Adsorbates mittels Ammoniak-Aceton erhalten werden (287), wobei zur weiteren Reinigung mit PWo-Säure gefällt und der Methylester dargestellt wird. Hochwirksame Präparate lassen sich nach Patenten der I. G. Farbenindustrie (170 a) durch Fällung mit Platinchlorür-Chlorwasserstoffsäure gewinnen.

Als Ausgangsmaterialien fanden durch Kögl und Tönnis (214) Hefekochsaft, Reis, Kleie, Malz, Harn und Frischeier Verwendung. Am besten jedoch hat sich chinesisches Trocken-Enteneigelb erwiesen, das je dq 0,44 mg krist. Biotin lieferte; es konnte so in 16 Reinigungsstufen eine 3,1 millionenfache Anreicherung erzielt werden.

Die Austestung wird nach Kögl (214) unter Verwendung der besonders biosarmen Mischhefe M des Institutes für Gärungsgewerbe in Berlin und der Nährlösung von Reader auf nephelometrischem Wege vorgenommen unter Zugrundelegung der Saccharomyces-Einheit (SE), d. i. derjenigen Menge des Gemisches der wirksamen Biosfaktoren, die unter den Testbedingungen einen Zuwachs von 100% hervorruft.

Biotin findet sich in allen Organen und Geweben des Tierkörpers mit alleiniger Ausnahme des Glaskörpers (208, 203); besonders hoch ist der Gehalt in Niere und Leber (212). Was das Vorkommen im Pflanzenreich anbelangt, sind Samen und Pollen an erster Stelle zu nennen (208, 203). Von Mikroorganismen enthalten es offenbar alle, bei denen Rohbios nachgewiesen wurde.

Das kristallisierte Biotin ist N- und S-haltig (204), aber P-frei. Die vermutliche Summenformel des Methylesters wird mit $C_{11}H_{18}O_3N_2S$ angegeben. Katalytische Hydrierung ist ohne Einfluß auf die Wirksamkeit. Biotin wirkt auf die Versuchshefe Rasse M als Mikroben-Ergon, die anderen Bioskomponenten, also auch der Meso-Inosit, steigern den stimulierenden Einfluß des Biotins, sind demnach Co-Wuchsstoffe (214). Außer für die Sprossung der Kulturhefen dürfte Biotin auch für das Wachstum mancher Hyphenpilze nötig sein; während Nematospora gossypii auf dieses Ergon besonders stark anspricht, scheinen andere Pilze dasselbe synthetisieren zu können (204, 206). Thiamin steigert bei gleichzeitiger Darbietung mit dem Biotin die Erntegewichte.

Das Biotin wirkt ferner auch als Phytohormon der Zellteilung bzw. des Plasmawuchses bei höheren Pflanzen (203, 5, 66, 504), wobei zum Nachweis vor allem der isolierte Erbsenembryo geeignet ist (208); es dürften daher auch die Auximone von Bottomley und Mockeridge (290) sowie die Hormone von Haberlandt dem Biotin nahestehen, evtl. sogar mit diesem identisch sein. Sofern man zum Nachweis solcher Zellteilungshormone die Beeinflussung der Hefesprossung verwendet, muß man sich nach Rippel (371) zunächst vergewissern, daß keine auf die Hefe giftig wirkenden Stoffe vorhanden sind.

Was die Wirkung des Biotins auf Bakterien anbelangt, konnten Kögl und Wagtendonk (215, 204) nachweisen, daß dieser Wuchsstoff — zumindest im Zusammenwirken mit Thiamin und Nicotinsäureamid — das Wachstum von Staphylococcus aureus stimuliert.

Biotin dürfte wohl auch in jener thermostabilen, an Aktivkohle reversibel adsorbierbaren Bioskomponente vorliegen, die die echten Milchsäurebakterien sowie die Propion-

säurebakterien und Tetrakokken neben Lactoflavin nach Orla-Jensen und Mitarbeiter (340) zum Wachstum bzw. zur Farbstoffbildung benötigen. Ähnliches scheint auch für die Fluoreszenten und das Bact. prodigiosum zuzutreffen; die Bakterienfarbstoffe Prodigiosin und Janthin sollen so wie Bios wirken (341). Auch bei der anregenden Wirkung wässeriger Extrakte von Koleoptilen und Wurzeln des Maises auf die N-Bindung durch Azotobacter (113) dürfte es sich um das Biotin handeln.

Da das Biotin keinen Einfluß auf die alkoholische Gärung ausübt, kann es nach Kögl (204) im Gegensatz zu Euler und Larsson (99) mit dem Faktor Z nicht wesensgleich sein. Hierfür spricht auch der Umstand, daß es durch Ausschütteln von Würze mittels Preßhefe gelingt, die Bioswirkung fast gänzlich auszuschalten, während von der ursprünglichen Faktor Z-Wirkung ungefähr die Hälfte erhalten bleibt [Hartelius und Nielsen (150)].

c) Die Pantothensäure [pantothenic acid] von Williams (508, 510).

Mit diesem Namen wird ein weitverbreiteter Aktivator für das Wachstum der Hefe (507, 368) und der grünen Pflanzen (513) bezeichnet, der sich in den Extrakten zahlreicher Gewebe und den verschiedenartigsten biologischen Materialien, so auch im Asp. niger, vorfindet; derselbe wird am besten aus Leber gewonnen (517). Es handelt sich um eine saure Substanz ohne amphotere Eigenschaften von bedeutender Hitzestabilität bei jeder Reaktion und einer Summenformel von $C_8H_{14}O_5N$; sie enthält eine Carboxyl-Gruppe, zwei Hydroxyle und wahrscheinlich eine substituierte Amido-Gruppe (517 a), aber keine olefinische Doppelbildung. Die stimulierende Wirkung auf das Hefewachstum wird so wie beim Biotin durch gleichzeitige Gabe von Inosit oder Aneurin allein oder zusammen m. m. stark erhöht (515). Atmung, Glykogenspeicherung und angeblich auch die Gärung werden durch Pantothensäure ebenfalls gefördert (511). In Kombination mit Thiamin soll dieser Wuchsstoff auch eine günstige Wirkung auf das Wachstum von Ustilago violacea zeigen (425). Auf Phycomyces wurde die Pantothensäure weder allein noch mit Inosit zusammen wirksam befunden (433); ein gleiches gilt für Rhodotorula rubra (419). Knöllchenbakterien — in Symbiose mit Alfalfa wachsend — ließen hingegen eine Entwicklungsförderung durch diese Säure erkennen (278).

Pantothensäure wird neben Thiamin, Lactoflavin und Inosit sowie gewissen Aminosäuren zum optimalen Wachstum von Trichophyton interdigitale benötigt, während zu einem spärlicheren Wachstum bereits einer der genannten Wuchsstoffe ausreicht (296 a).

Da Pantothensäure auch für das Wachstum mancher Milchsäurebakterien benötigt wird (449 a), ist es immerhin möglich, daß die oben beim Biotin erwähnte, durch Orla-Jensen (340, 341) beobachtete Förderung der Entwicklung von Milchsäurebakterien auf diese Säure zurückzuführen ist.

d) Bios II A bzw. Bios III.

Bios II A nach Miller, das Kögl als Bios III bezeichnet, verbleibt bei der Behandlung von Bios II mit Tierkohle unadsorbiert in Lösung (287); zur Gewinnung eignet sich am besten Tomatensaft (284). Durch Fällung mit Hg-Acetat und weitere Reinigung wurde das Cu-Salz einer Oxyaminobuttersäure erhalten (284) [hydroxy-amino-butyric acid = HAB nach Stantial]. Nachdem die Unwirksamkeit der synthetisch hergestellten Substanzen dieser Art erkannt worden war (344), stellte sich heraus, daß die Wirksamkeit der „HAB" auf einer Beimengung von β-Alanin und l-Leucin beruht (285, 514).

In Untersuchungen an obergäriger Hefe (Sacch. cerevisiae) konnten Nielsen und Hartelius (327) ebenfalls eine Wuchsstoff-

wirkung des β-Alanins beobachten, jedoch nur dann, wenn gleichzeitig Asparagin oder Asparaginsäure in der Nährlösung geboten wurde. Unter diesen Umständen trat die Wirkung bereits bei einem Zusatz von 0,2 γ je 50 ccm ein und erreichte bei 5 γ ihr Maximum; bei sehr hohen Dosen (ca. 20 mg je 50 ccm) war eine schwache Giftwirkung festzustellen. Wurde jedoch der Zusatz von Asparagin oder Asparaginsäure weggelassen, so war β-Alanin nicht nur als Wuchsstoff vollständig unwirksam, sondern bei Gaben von 200 γ je 50 ccm an aufwärts zeigte es eine stark zunehmende Giftigkeit. Die Ergonwirkung des β-Alanins ist anscheinend an die freie Aminosäure gebunden, da β-Alanyl-Glycin als unwirksam befunden wurde.

Auf Asp. niger hingegen übt β-Alanin nicht nur keine Wuchsstoffwirkung aus, sondern erweist sich sogar als hemmend (328). Wohl aber konnten Buston und Mitarbeiter (51) in Versuchen mit Nematospora gossypii in einem synthetischen Medium eine Wachstumsförderung durch diese Aminosäure feststellen, sofern dieselbe in niedriger Konzentration geboten wurde.

Das β-Alanin spielt zufolge Mueller und Cohen (301) auch beim Corynebacterium diphtheriae eine bedeutsame Rolle, indem es zusammen mit Nicotinsäure — und bei einigen Arten auch mit Pimelinsäure (297) — zwei Drittel des mit Gewebeextrakt erreichbaren maximalen Wachstums bewirkt; hierbei kann das β-Alanin durch l-Carnosin ersetzt werden, aus dem es offenbar durch enzymatischen Abbau entsteht (300). Auch bei der stimulierenden Wirkung auf das Hefewachstum läßt sich nach Miller (286) Bios II A durch ein Hydrolysat von Carnosinnitrat ersetzen.

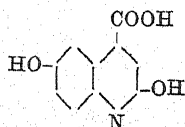
Um die Bios II A-Fraktion dürfte es sich auch in den Versuchen von Dagys (69) gehandelt haben, der bei der Proteolyse von Kleberproteinen durch Papayotin die Entstehung von Hefewuchsstoffen nachwies und deshalb diese letzteren als Bausteine der Eiweißkörper auffaßt [vgl. auch (130, 15)].

e) Bios V.

Bios V ähnelt in verschiedener Hinsicht, vor allem durch seine Empfindlichkeit gegen Oxydationsmittel und Säuren dem Vitamin C. Es läßt sich in Tomatensaft, Bierwürze, Hefewasser, Zitronensaft und Linsenextrakt nachweisen und wird von einigen Sproßpilzen, vor allem von Hanseniaspora valbyensis und Sacch. galactosus, zur Vermehrung benötigt (105, 284). Die Abscheidung aus Tomatensaft kann nach Elder (90) durch Tannin- und Bleiacetat-Fällung, die weitere Reinigung durch Ausfällung mittels Methanol und Aceton erfolgen. Neuerdings konnte Miller (286) in Versuchen mit H. valbyensis und Hefe Nr. 2335 zeigen, daß Bios V in der Wirkung dem Vitamin B_1 weitgehend gleicht; derselbe Forscher nimmt in den Rohbios-Lösungen nach ein Bios VII an.

f) γ- und β-Säure.

Aus dem aus Reiskleie gewonnenen Rohbios erhielten Suzuki und Hamamura (462) durch Laugenkochung eine von ihnen als γ-Säure bezeichnete gelbbraune Substanz, deren Methylierungsprodukt bei der Oxydation mit Permanganat Trimethylgallussäure lieferte und die sowohl in der Enol- als auch in der Keto-Form auftreten kann. Aus der Mutterlauge von dieser γ-Säure konnten neben anderen krist. Produkten gelbe Kristalle einer Substanz von der Zusammensetzung gemäß nachfolgender Formel, der sog. β-Säure, abgeschieden werden (463).

COOH
HO– –OH
N

β-Säure.

J. Spezifische wasserlösliche Wuchsstoffe der Hyphenpilze.

Außer dem Thiamin (Vitamin B_1) scheinen noch andere wasserlösliche Stoffe das Wachstum von Hyphenpilzen, und zwar vor allem jenes von Schimmelpilzen zu beeinflussen; da über den chemischen Bau derselben näheres nicht sicher bekannt ist, soll die Anordnung nach den Pilzen, auf die sie wirken, getroffen werden.

1. Die Mucorineen-Wuchsstoffgruppe M nach Schopfer.

In den Extrakten von Getreidekeimlingen und von Hefe soll nach Schopfer (408, 409) außer dem Thiamin noch eine auf Mucorineen spezifisch wirkende Wuchsstoffgruppe enthalten sein [Gruppe M].

Die zu dieser gehörenden Stoffe sind ebenso wie das Vitamin B_1 in Wasser und Alkohol löslich, in Äther unlöslich, jedoch noch wesentlich thermoresistenter wie dieses (408); sie sind nach Schopfer (416) mit den Wuchsstoffen der Biosgruppe nicht identisch, dürften jedoch ebenso wie diese unter Mitwirkung des Vitamins B_1 gebildet werden (429).

Die Gruppe M wird in die Wuchsstoffe MP und MR unterschieden, je nachdem, ob eine Wirkung auf Phycomyces oder auf Rhizopus zu beobachten ist.

Beide Faktoren sind resistent gegen Hitze und Alkali, jedoch erscheint diese Widerstandsfähigkeit bei MP stärker ausgebildet als bei MR. Während MP an Tierkohle adsorbiert wird, tritt dies bei MR nicht ein (433). Der Faktor MP steht in seinen Eigenschaften dem Vitamin B_1 nahe, jedoch ist er von diesem durch seine Extrahierbarkeit mittels Chloroform, seine Alkalibeständigkeit und die wesentlich größere Hitzeresistenz unterschieden; in letzterer Hinsicht stimmt er mit dem Vitamin B_5 überein. Zufolge Janke und Sorgo (177 a) dürfte der Faktor MP gemäß seiner Wirkung auf Phyc. Blakesleeanus aus den Komponenten des Thiamins bestehen.

Der Faktor MR hingegen weist eine große Ähnlichkeit mit dem Aspergillus-Wuchsstoff von Nielsen auf, mit dem er nach Janke und Sorgo (177 a) wahrscheinlich identisch ist. Er ist außer im Keimlings- und Hefeextrakt auch in Rohwatte angetroffen worden, während er in gebleichter Watte nicht zu finden war (434).

Mit dem Faktor MP scheint auch jener in Chloroform lösliche Wuchsstoff wesensgleich zu sein, der zufolge Müller (302) auf das Wachstum von Mucor Ramannianus stark fördernd wirkt. Nach Guttenberg (137) wäre auch der von Dagys (68) in Mais- und Weizenkeimlingen aufgefundene und die Trockensubstanzzunahme bei Asp. niger fördernde Wuchsstoff hierher zu rechnen.

2. Der Aspergillus-Wuchsstoff von Nielsen.

a) Die Wuchsstoffgruppe B nach Nielsen und deren Einteilung.

Bereits Raulin (365) hatte beobachtet, daß Asp. niger in der Kulturflüssigkeit einen das Wachstum begünstigenden Stoff ausscheidet, der die Entwicklung der nächsten Generation beschleunigt, und Nikitinsky (330) gelang es, durch Ersatz des verbrauchten Zuckers eine Steigerung der Trockensubstanzzunahme sowie eine bessere Ausnutzung des Zuckers zu erzielen.

Nielsen und Hartelius (319) konnten solche Wuchsstoffe auch in einer Nährlösung mit Glucose und Ammoniumtartrat, in der Rhiz. suinus kultiviert worden war, nachweisen und stellten dieselben als Gruppe B den Streckungswuchsstoffen der Gruppe A gegenüber, mit denen sie wohl die Thermostabilität gemein haben, von denen sie sich aber durch ihre Unlöslichkeit in Äther unterscheiden. Als sich später herausstellte, daß dieser Aspergillus-Wuchsstoff zumeist mit einem ähnlichen, jedoch auf Hefe wirkenden vergesellschaftet auftritt, wurde die Gruppe B in B_1 (Bios-Gruppe) und B_2 (Aspergillus-Wuchsstoff) geteilt, wobei eine

Trennung der beiden infolge Resistenz von B_2 gegen Oxydationsmittel sowie durch Ausschütteln von B_1 durch Hefe bei Gegenwart von vergärbarem Zucker und von B_2 durch Asp. niger-Myzel möglich ist (325, 326, 318).

Diese Benennung der fraglichen Wuchsstoffe mit B_1 und B_2 muß jedoch im Hinblick auf die leichte Verwechselbarkeit mit den gleichnamigen Vitaminen als nicht sehr glücklich bezeichnet werden.

b) Das Vorkommen des Aspergillus-Wuchsstoffes.

Aus dem Mitgeteilten ergibt sich schon, daß dieser Wuchsstoff überall dort anzutreffen sein wird, wo sich die Bios-Gruppe vorfindet.

So wurde er im Harn (144, 145) nachgewiesen, und zwar stammt er daselbst wahrscheinlich der Hauptmenge nach aus der Nahrung, denn die wichtigsten Lebensmittel sind reich daran (146, 149). Besonders hoch ist der Gehalt an Kalbsleber (149); auch die Bierwürze enthält ziemlich viel davon. Mehr noch als in letzterer wurde von Nielsen (315) in den Sporen von Polyporus fomentarius aufgefunden, in denen er sich anscheinend während eines Jahres unverändert erhalten hat. Auch die verschiedensten Schimmelpilze weisen denselben auf. Zufolge Sakamura und Yanagihara (386) soll derselbe durch Säurespaltung des Peptons entstehen.

Diesem Aspergillus-Wuchsstoff scheint auch jener nahezustehen, den Okunuki (337) neben einem ätherlöslichen, kochbeständigen und an Karton adsorbierbaren Hemmungsstoff in der Rosahefe Tor. Suganii nachgewiesen hat.

c) Gewinnung des Aspergillus-Wuchsstoffes auf chemischem Wege.

Der Aspergillus-Wuchsstoff kann nach Nielsen und Hartelius (320) auch auf chemischem Wege gewonnen werden, indem man Glucose und Ammoniumtartratlösung mit Filtrierpapierstückchen oder deren Asche im Autoklaven sterilisiert.

Hierbei läßt sich das Ammoniumtartrat durch Weinsäure oder eine andere organische Säure ersetzen; und an Stelle der Glucose kann auch Fructose oder Arabinose Verwendung finden. Das Filtrierpapier bzw. dessen Asche wirken hierbei als Co-Wuchsstoffe, d. h. sie verstärken die Ergonwirkung; auch bei der biologischen Wuchsstoffbildung durch Rhiz. suinus wirkt das als Unterlage benutzte Filtrierpapier in gleicher Weise (322). Beim Filtrierpapier bzw. dessen Asche handelt es sich offenbar um eine Metallwirkung, denn ein gleicher, ja sogar noch stärkerer Effekt kann durch ein Gemisch der Chloride des Ba, Be, Hg, Cr, Ca, Zn, Cd, Cu, Mn, Co und Li erzielt werden; einzeln hingegen sind die meisten dieser Kationen unwirksam (323).

Auch Glykolsäure und Brenztraubensäure, von denen jede für sich nur von geringem Einfluß ist, geben zusammen eine kräftige Wuchsstoffwirkung auf Asp. niger; fügt man zu einer der genannten organischen Säuren oder zum Gemische beider noch Glyoxalsäure oder Ascorbinsäure hinzu, so wird der fördernde Einfluß stark gesteigert [Nielsen und Hartelius (324)].

Ein mit diesem synthetischen Aspergillus-Wuchsstoff anscheinend identischer ist durch Dagys (66) im Frühjahrsblutungssaft der Birke nachgewiesen worden.

d) Wirkung des Aspergillus-Wuchsstoffes.

Die mittels Pilze, also auf biologischem Wege, erhaltenen Wuchsstoffe wirken nach den Feststellungen von Nielsen (316) nicht nur allein bei Asp. niger, sondern auch bei anderen Pilzen, wie Rhizopus suinus und Penicillium Roqueforti, fördernd auf die Trockensubstanzproduktion, nicht hingegen bei Hefe.

Die auf rein chemischem Wege gewonnenen Wuchsstoffe aber beeinflussen

nur die Entwicklung von Asp. niger, nicht hingegen jene der anderen daraufhin geprüften Pilze [Nielsen und Sing-Fang (329)]. Durch Zusatz des Wuchsstoffes verschiebt sich das p_H-Optimum für das Wachstum von $p_H = 3$ auf $p_H = 6—7$ (321).

3. Wuchsstoffe für verschiedene andere Pilze.

a) Wuchsstoffe für Nematospora gossypii und Melanospora destruens.

In synthetischen Medien mit Hydrolyseprodukten der Gelatine als alleiniger Stickstoffquelle wächst Nematospora gossypii nicht, wohl aber nach Zusatz eines Extraktes aus Linsen oder Lupinenkeimlingen. In diesen letzteren sind 2 Faktoren wirksam, von denen der eine durch Baryt und Alkohol fällbar ist und sich durch Inosit ersetzen läßt, während der zweite mit Quecksilberacetat und Natriumcarbonat ausgefällt werden kann [Buston und Mitarbeiter (52, 50)]. Beide Faktoren treten mit Bios vergesellschaftet auf, sind aber nicht mit Biotin identisch (53). Der zweite Faktor, der vor allem mit Proteinen zusammen in Samen vorkommt, scheint nach den Feststellungen von Kögl und Fries (206) mit dem Thiamin wesensgleich zu sein.

Anscheinend dieselben Faktoren aus Linsenextrakt wirken auch auf das Wachstum von Melanospora destruens. Für die Sporenbildung dieses Pilzes aber genügt der Faktor 2 — also offenbar Thiamin — allein und es gibt hierfür ein Extraktoptimum, bei dessen Überschreitung die Fruktifikation wieder abnimmt. Mit zunehmender Menge dieses Faktors steigt die Nitratassimilation und mit dieser die Perithecienbildung. Ähnlich wie Linsenextrakt verhält sich ein Extrakt aus gealtertem Pilzmyzel, jedoch ist dieser ärmer an Inosit [Hawker (152)].

Mit dem zweiten Faktor scheint jener Wuchsstoff identisch zu sein, der durch Padwick (347) aus Casein und Mohrrüben erhalten wurde und das Wachstum von Ophiobulus graminis in synthetischen Nährlösungen ermöglicht; er konnte in seiner Wirkung durch eine Bakterienkultur ersetzt werden.

b) Wuchsstoffe für Dematium pullulans.

Kamillenextrakt fördert nach Boas und Bauer (31) bei Dematium pullulans die Teilungsfreudigkeit, vor allem in Gestalt der Sproßkonidienbildung; Mistelextrakt begünstigt hingegen vor allem die Fadenmyzelbildung. Es wird die Existenz mehrerer Teilungsfaktoren angenommen. In Versuchen von Lehner (248) an einer Purpurbakterie der Gattung Thiocystis konnte keine fördernde Wirkung von Kamillenauszug festgestellt werden; vielmehr zeigten sich Krüppelformen in relativ großer Zahl.

K. Die Wuchsstoffe der Bakterien.

Ältere Literatur bei Knorr (201), Weichardt (499a), Scott (445), Anderson (9).

Eine Ergonwirkung auf Bakterien läßt sich in verschiedener Hinsicht feststellen. So kann es sich um eine Förderung der Zellteilung bzw. des Zellzuwachses handeln, wobei ohne Ergonzusatz die Vermehrung überhaupt ausbleibt oder aber nur sehr kümmerlich verläuft; häufig ist vor allem eine Abkürzung der Latenzperiode zu beobachten. Ferner zeigt sich mitunter eine Verbreiterung der Latitude, d. h. des Wachstumsbereiches für gewisse äußere Lebensfaktoren, wie Wasserstoffionenkonzentration u. dgl. m. auf bestimmten Nährböden. Auch die verschiedensten chemischen Leistungen können eine Beeinflussung erfahren, so Gärungen, Giftbildung, Virulenz usw., doch sollen diese Veränderungen als zum Wachstumsproblem nicht unmittelbar zugehörig außerhalb unserer Betrachtungen bleiben.

Von den bisher besprochenen Ergonen und Wuchsstoffen sind die folgenden auf Bakterien wirksam befunden worden, worüber bereits weiter oben berichtet wurde:

1. Von **Vitaminen**: Thiamin (B_1), Lactoflavin (B_2), Ascorbinsäure (C), Provitamin A, Vitamin K;
2. von **Phytoergonen**: a) der A-Gruppe: Heteroauxin;
   b) der B-Gruppe: Biotin, Bios II A;

3. von **Pyridin-Systemen**: Nicotinsäure und deren Nucleotide (Dehydrasen, Faktor V);
4. von **Sulfhydril-Systemen**: Glutathion;
5. von **Hämin-Systemen**: Faktor X und die Hämin-Enzyme.

Hierzu kommen noch:

6. **Bakterienwuchsstoffe unbekannter Zusammensetzung.**

Es handelt sich um wasserlösliche Wuchsstoffe, die teils den Vitaminen B_1 und B_2 sowie dem Biotin, teils den Ergonen aus Hyphenpilzen nahezustehen scheinen.

a) Wuchsstoffe, die auf Hyochibazillen wirken [Otani (345)].

Die Hyochibazillen stammen aus Saké und sind fast alle zu den homofermentativen Milchsäurebakterien des Genus Thermobacterium zu rechnen; es handelt sich also um grampositive Stäbchen, denen sowohl das Vermögen zur Sporenbildung als auch jenes zur Eigenbewegung fehlt. Sie wachsen wohl in Saké gut; in gewöhnlichen Nährlösungen jedoch nur bei Zugabe von Wuchsstoffen, die in Tierorganen, Tier- und Pflanzengeweben sowie in Vitaminpräparaten vorkommen. Diese Wuchsstoffe sind hitzebeständig, in W. l. l., an Fullererde adsorbierbar und durch Alkali leicht zersetzbar; durch Phosphorwolframsäure werden sie gefällt, nicht hingegen durch Bleiacetat. Die Ergonwirkung ist am günstigsten bei einem p_H von 4,5—5 und einer Temperatur von 30° C. Es dürfte sich um Lactoflavin handeln.

b) Wuchsstoffe, die auf verschiedene pathogene Bakterien wirken.

Ein auf Bac. botulinus und Staphylokokken wirkender Wuchsstoff konnte durch Hosoja und Mitarbeiter (167) aus Fischextrakt des Handels durch Extraktion mit Essigsäure und wiederholte Fällung mit Schwermetallen, Pikrinsäure und Phosphorwolframsäure gewonnen werden. Aus der alkoholischen Mutterlauge ließen sich noch 2 andere Stoffe isolieren, von denen der eine auf Bac. botulinus, der andere auf Staphylokokken wirkte.

Ein Wachstumsfaktor für Corynebact. dyphtheriae, Bact. dysenteriae und Staphylococcus albus ist zufolge Saunders und Mitarbeiter (388) in Kalbfleischextrakt, Milz, Kalbsleber und Hefe enthalten. Derselbe ist löslich in Wasser, Alkohol und Methylalkohol sowie gegen Erhitzen und schwächere Oxydationsmittel beständig. Das wirksame Ergon scheint dem Aspergillus-Wuchsstoff B_2 von Nielsen nahezustehen. Hierher ist möglicherweise auch der durch Weichardt (499) auf Corynebact. dyphtheriae wirksam befundene Wuchsstoff aus Hefeextrakt (vor allem Levurinose Blaes) zu rechnen.

Bakterien, die auf gewöhnlichem Nähragar nicht oder nur mangelhaft wachsen, wie Diphtheriebazillen, Streptokokken und Pneumokokken werden zufolge Hoder (160, 161) in ihrem Wachstum wesentlich gefördert, wenn man dem Agar Preßsaft von roten Rüben bzw. Tomaten oder Kokosnußmilch zusetzt. Der als „eubiotisches Prinzip" bezeichnete Wuchsstoff wird durch Erhitzen in Kokosmilch geschädigt, wobei die Stärke der Schädigung für die einzelnen Bakterienarten verschieden ist.

c) Wuchsstoffe, die auf Bacterium Delbrückii wirken.

Wie oben bereits ausgeführt wurde, sind für das Wachstum homofermentativer Milchsäurebakterien, vor allem von solchen des Genus Thermobacterium, Bios und Vitamin B_2 nötig; bei Bact. Delbrückii scheinen noch einige andere Faktoren hinzuzukommen. So wird das Wachstum dieses Bakteriums in peptonhaltigen mineralischen Nährlösungen zufolge Snell und Mitarbeiter (450) durch wässerige Kartoffelauszüge oder Leberextrakt begünstigt. Das Pepton liefert hierbei das für das Bakterium lebenswichtige Tryptophan sowie einen basischen Wuchsstoff, während im Kartoffelauszug eine ätherlösliche organische Säure von niedrigem Molekulargewicht enthalten ist, die auf das Bact. Delbrückii eine Ergonwirkung ausüben soll.

d) Für ein anaerobes Wachstum des Staphylococcus aureus nötiger Wuchsstoff.

Damit sich Staphylococcus aureus in einem synthetischen Nährboden, der als organische Bestandteile Traubenzucker, Aminosäuren, Brenztraubensäure und eine organische S-Verbindung enthält, unter anaeroben Verhältnissen entwickeln kann, ist nach Richardson (369) noch die Gegenwart eines Faktors nötig, der als

Uracil (= 2,6-Dioxypyrimidin) erkannt wurde; von 21 weiteren daraufhin untersuchten Pyrimidin- und Purin-Verbindungen konnte keine einzige das Uracil ersetzen. Bei aerobem Wachstum synthetisiert der Staphylococcus einen Stoff mit den biologischen Eigenschaften des Uracils. Ob es sich hierbei nicht um die Synthese einer Verbindung handelt, die wie das Thiamin oder die Co-Dehydrasen einen Pyrimidinring enthalten, wäre wohl noch näher zu untersuchen; für die Synthese einer Co-Dehydrase scheint der Umstand zu sprechen, daß der Staphylococcus aureus — wie bereits mitgeteilt wurde — zum Wachstum auch Nicotinsäureamid benötigt.

e) Wuchsstoffe für Micrococcus Eykmannii.

Micrococcus Eykmannii wurde von Dooren de Jong (79) zufällig als Verunreinigung aufgefunden. Dieser Mikrobe wies auf Pepton Poulenc pulverisée bloß ein kümmerliches Wachstum auf, das aber durch gleichzeitig anwesende andere Bakterien, Sproß- oder Hyphenpilze eine wesentliche Förderung erfuhr. In den übrigen Handelspeptonen scheint der wirksame Wuchsstoff enthalten zu sein, da bei diesen die Wachstumsbehinderung ausblieb.

f) Bakterienwuchsstoffe, die aus Schimmelpilzkulturen stammen.

Wie Sartory und Mitarbeiter (387) festgestellt haben, beschleunigt das Filtrat junger Kulturen von Mucor plumbeus, Rhiz. nigricans, Asp. fumigatus und Schizosacch. hominis die anfängliche Vermehrung verschiedener Bakterien; nach 3 Tagen zeigt sich keine Wirkung mehr. Die Bakterien lassen sich in 4 Gruppen sondern, je nachdem, ob das Filtrat von Mucorineen, von Aspergillus- oder von Schizosaccharomyces-Arten wirksam ist oder aber jegliche Wirkung ausbleibt, wie dies z. B. beim Rauschbrandbazillus der Fall ist. Die Wuchsstoffe sind wasserlöslich, thermostabil und werden erst nach Erwärmen auf mindestens 80° wirksam.

g) Wuchsstoffe, die auf Bact. radicicola wirken.

Zum normalen Wachstum von Rhizobium trifolii ist außer dem „Co-Enzym R" von Allison (4), das offenbar vorwiegend aus Thiamin und einem ätherlöslichen Wuchsstoff besteht (331), zufolge Steinberg (455 b) noch ein weiterer Faktor nötig, der Rhizobiosin genannt wird.

L. Der Wirkungsmechanismus der Mikrobenwuchsstoffe.

Wie aus den Ausführungen der vorangegangenen Abschnitte hervorgeht, besteht hinsichtlich der auf die Mikroorganismen wirksamen Wuchsstoffe eine große Mannigfaltigkeit. Es drängt sich nun die Frage auf, wie denn diese verschiedenartigen Substanzen, deren chemische Zusammensetzung — soweit eine solche bekannt ist — voneinander stark abweicht, in den Mechanismus der Zellneubildung und des Plasmawuchses eingreifen. Von einer klaren Beantwortung dieser Frage sind wir infolge der Undurchsichtigkeit der Verhältnisse noch recht weit entfernt. Immerhin ergeben sich aber gewisse Anhaltspunkte, die einen Schluß auf verschiedene Wirkungsmöglichkeiten zu ziehen gestatten.

1. Indirekte Wirkungen der Wuchsstoffe.

Die Wuchsstoffe können insofern eine indirekte Wirkung auf die Wachstumsvorgänge ausüben, als sie diese entweder überhaupt erst ermöglichen oder die Voraussetzungen für einen rascheren Ablauf schaffen. Hierfür dürfte in erster Linie die Redoxwirkung vieler Wuchsstoffe in Frage kommen.

a) Mikrobenwuchsstoffe als Redox-Systeme.

Literatur: Als Werke über Oxydations-Reduktions-Potentiale mit ausführlichen Literaturangaben seien Michaelis (282) und Hewitt (157) genannt. Über den Chemismus und die Redoxpotentiale jener Ergone, die zugleich als Co-Enzyme wirksam sind, ist näheres bei Oppenheimer (338) zu finden.

Von den in den vorangegangen Abschnitten besprochenen Wuchsstoffen sind die nachfolgenden als Redoxsysteme erkannt worden, von denen freilich manche nur unter gewissen Umständen reversibel sind. Einige der Ergone können sich durch Verankerung an einem kolloiden Träger als Agon am Aufbau von Enzymen beteiligen (Ergozyme).

Tabelle 1.

Ergon	pH	T	Eo′	rH_2	wirksame Redoxgruppe	Ergozym
Co-Dehydrase I (Faktor V)	7,0	30	— 315	3,5	Nicotinsäure	Dehydrasen
Lactoflavin .	7,0	30	— 210	7	Isoalloxazin-Ring	gelbes Ferment
Ascorbinsäure.	7,0	30	— 54	12,2	Dienolgruppe	—
Glutathion . .	7,0	30	?	?	SH-Gruppe	—
Cytochrom . .	7,0	30	+ 123	18,1	Hämin	—
Thiamin (Vitamin B_1) . .	—	—	—	—	Thiazolgruppe	Carboxylase
Adrenalin . .	7,0	30	+ 380	26,7	Dioxyphenylgruppe	—

Diese Redoxsysteme sind z. T. imstande, durch ihre bloße Gegenwart, nämlich durch die Einstellung eines geeigneten Redoxpotentials, die Voraussetzungen für die Entwicklung bestimmter Mikroben zu schaffen, ohne aber in den Assimilations- und Zellneubildungsprozeß selbst einzugreifen.

Solche Verhältnisse liegen bei den Sulfhydril-Systemen und bei der Ascorbinsäure vor, die durch ihr Potential den Anaerobiern überhaupt erst die Entwicklung ermöglichen, sofern das Nährsubstrat nicht schon selbst ein genügend negatives Potential aufweist. Es kann sich hierbei entweder um einen unmittelbaren Schutz vor dem Luftsauerstoff durch Abbindung desselben (88, 221) oder aber um eine Unschädlichmachung des gebildeten Wasserstoffsuperoxyds handeln (491, 195); in letzterer Weise scheinen auch Häminsysteme wirken zu können. Hierher ist auch die Umschaltung des Stoffwechsels der Hefe durch Schwefelsysteme zu rechnen; solche in der SH-Form fördern die Gärung und hemmen die Atmung, während die SS-Formen gegenteilig wirken (281). Bei Diphtheriebazillen konnte Leutze (252) einen ähnlichen Einfluß von Schwefelwasserstoff, der von Begleitorganismen produziert wurde, beobachten.

Bei anderen Redoxwuchsstoffen ist die Wirksamkeit jedoch keineswegs mit einer solchen schützenden Wirkung erschöpft.

So erscheint beim Thiamin die Pyrimidin-Komponente für das Wachstum der Schimmelpilze ebenso wichtig als der Thiazolring, obwohl letzterem die Redoxwirkung zuzuschreiben ist. Auch dürfen die Abweichungen im chemischen Bau der beiden Konstituenten des Thiamins nur geringfügig sein, ohne daß diese ihre Ergonwirkung auf Bakterien, wie Staphylococcus aureus (200), oder auf Schimmelpilze (35a) einbüßen.

Eine weitergehende Wirkung der Redoxwuchsstoffe ist auch dadurch gegeben, daß mancher von ihnen als Agon eines Enzymsystems wirken kann oder leicht in ein solches Co-Enzym übergeht.

Dies trifft zu für die Co-Dehydrasen, das Lactoflavin und das Thiamin. Hierdurch ist der Eingriff dieser Ergone in den Betriebsstoffwechsel, der ja mit dem Baustoffwechsel zumindest in energetischer Hinsicht gekoppelt ist, gesichert. Die dargebotenen Nährstoffe, die der Energielieferung dienen — vor allem die Kohlenhydrate —, fallen einer stufenweisen Dehydrierung anheim, wobei der aktivierte Wasserstoff von einem Redoxsystem zum nächsten mit positiveren Potential wandert, um schließlich durch Vereinigung mit dem Luftsauerstoff oder aber mit einem organischen Akzeptor die Betriebsenergie zu liefern. Es muß nun wohl mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß im Wandel dieser Dehydrierungs- und Hydrierungs-

prozesse auch Substanzen entstehen, die infolge des Besitzes besonders aktivierter Atomgruppierungen zur Synthese von Zellkonstituenten befähigt sind. Ein solches indirektes Eingreifen in die Zellneubildung scheint beim Thiamin, Lactoflavin und beim Aspergillus-Wuchsstoff B_2 vorzuliegen, die vor allem auf die Ausnutzung der Stickstoffquellen durch Schimmelpilze Einfluß nehmen.

Die indirekten Wuchsstoffwirkungen durch Redoxsysteme können aber immerhin auch eine gewisse Spezifität aufweisen, die durch die Lage des Normalpotentials (E_0') des wirksamen Ergons gegeben ist.

b) Andere Arten von Milieubeeinflussung.

Nicht in allen Fällen von indirekten Wuchsstoffwirkungen muß es sich um Eingriffe von Redoxsysteme handeln. Man wird mit Weichardt (499a) auch an Dispersitätsänderungen der Zellkolloide denken können. Solche werden dann Viskositätsänderungen hervorrufen, die zu einer Beschleunigung der Plasmaströmung führen, wie eine solche Thimann und Sweeney (485) an den Epidermiszellen der Avena-Koleoptile durch Heteroauxin und verwandte Substanzen beobachtet haben. Viskositätsänderungen können aber auch eine Umschaltung der Enzymwirkungen vom Abbau zur Synthese bewerkstelligen.

Auch eine Herabsetzung der Oberflächenspannung kann verstärktes Wachstum im Gefolge haben, wie dies Hahn (139) beim Soorpilz beobachtet hat.

Schließlich werden auch Verschiebungen der Wasserstoffionenkonzentration durch die Beeinflussung der Enzymwirkungen, so z. B. durch Umschaltung des Abbaus auf die Synthese zu Änderungen im Stoffwechsel führen können; vielleicht treten hierbei auch Verlagerungen in den isoelektrischen Gebieten der Plasmaampholyte ein.

2. Unmittelbare Wirkungen der Wuchsstoffe.

Bei den echten Ergonen, die über das lebende Plasma wirken, wird man wohl eine Bindung an Bestandteile des letzteren annehmen müssen. Vor allem kommt eine Verankerung an Eiweißkörper in Frage, die sich in jenem aktivierten Zustand befinden, der für den Ganzheitsverband der lebenden Zelle offenbar charakteristisch ist.

Eine solche Bindung der Ergone an zelleigene Proteine, und zwar an einen engbegrenzten Haftbezirk nimmt auch Kögl (204) bei den Auxinen an. Er gelangte zu dieser Vorstellung auf Grund von Versuchen mit der ein asymmetrisches C-Atom aufweisenden und daher optisch aktiven α-(β'-Indolyl)-propionsäure, wobei sich eine verschieden starke Wirksamkeit der beiden optischen Antipoden ergab.

Diese — wahrscheinlich im Chondriom vor sich gehende — spezifische Bindung der Ergone an „lebendes" Zelleiweiß stellt offenbar den Einleitungsschritt zur Wachstumsstimulierung dar. An diesen schließt sich eine oxydative Primärphase, die bei verschiedenen Ergonen experimentell sichergestellt werden konnte (48, 35). Dann dürfte eine Quellungsphase folgen, an die sich die eigentliche Zellteilungs- bzw. Zellstreckungsphase anreiht.

3. „Wuchsstoffe" als Bestandteile von Ergonen oder als Co-Wuchsstoffe.

Die Erfahrung hat gelehrt, daß mitunter den anscheinend als Wuchsstoffe wirkenden Substanzen die Eigenschaften von solchen nicht unmittelbar zukommen, sondern dieselben nur Bausteine vorstellen, aus denen sich die Mikroorganismen erst den eigentlichen Wuchsstoff bilden. So wirken

z. B. die beiden Konstituenten des Thiamins, die Pyrimidin- und die Thiazol-Gruppe, auf verschiedene Pilze, sofern diesen eine von beiden dargeboten wird; die betreffenden Pilze sind eben imstande, die andere Komponente zu synthetisieren.

Co-Wuchsstoffe zeigen allein keine oder nur eine sehr geringe Wuchsstoffwirkung, verstärken jedoch den wachstumsfördernden Einfluß anderer Ergone erheblich.

So stellen Meso-Inosit, Bios II A und Bios V Co-Wuchsstoffe zum Biotin dar, vor allem aber sind die vielfach beobachteten Wirkungen von Metallen als Wirkstoffe hierher zu rechnen, sofern diese nicht direkt am Aufbau eines Enzymagons beteiligt sind, wie dies beim Eisen der Fall sein kann.

Von den Schwermetallen ist vor allem das Mangan anzuführen, dessen fördernde Wirkung auf Wachstum und Reproduktion des Asp. niger durch Bertrand [Literatur! (25 a)] studiert wurde. Ferner sei der Versuche von Schulz (443) Erwähnung getan, der am gleichen Pilz durch Zusatz von 0,01% Zn-, Cd-, Mn- oder Fe-Salzen eine Zunahme der Trockensubstanz und eine qualitative Änderung derselben zugunsten höherer Kohlenhydrate beobachtete.

Zink ist ferner zufolge Waksman und Foster (494 a) auf Wachstum und Säureproduktion von Rhiz. nigricans von Einfluß, und zwar scheint es die Oxydationsprozesse zu begünstigen, da die aus Glucose gebildete Fumarsäuremenge herabgesetzt wird.

Am oxydativen Stoffwechsel scheint auch das Kupfer beteiligt zu sein. So wie Zn und Fe fördert dieses Schwermetall das Wachstum und die Fruktifikation von Asp. niger (38 a, 378 a, 126 a) sowie die Trockensubstanz-Produktion bei anderen Asp.-Arten (378 a, 280 a), aber auch bei Penicillien und anderen Pilzen (280 a). Bei Asp. niger ist Cu zur Ausbildung der schwarzen Konidienfarbe nötig; bei seiner Abwesenheit kommt es bloß zu einer gelben oder braunen Färbung (378 a, 301 a). Die Gegenwart geringer Mengen von Kupfer — wie auch solcher von Zink oder Mangan — bewirkt ferner eine Erhöhung der Hefeernte und eine Stimulierung der Gärung; die gleichzeitige Anwesenheit aller drei genannten Schwermetalle ergibt die stärkste Wirkung (278 a).

Für Wachstum und Sporenbildung von Asp. niger ist zufolge Steinberg außer Zink und Molybdän (455 a) auch Gallium (455 c) unumgänglich notwendig.

Deutlich zeigt sich Co-Wuchstoff-Wirkung bei den in Filtrierpapierasche enthaltenen Metallsalzen, die den wachstumsfördernden Einfluß des synthetischen Aspergillus-Wuchsstoffes nach Nielsen (322, 323) steigern. Spuren von Molybdän-Salzen wieder bewirken nach Bortels (38 b) eine Stimulation des Azotobacter-Wachstums (vgl. auch 49 a).

Daß auch bei der Ergonwirkung durch Zoohormone Mineralstoffe als Co-Wuchsstoffe wirken können, haben Bertrand und Weber (26) gezeigt, indem sie nachwiesen, daß Spuren von Zink die Sprossungsbegünstigung von Rhodotorula glutinis durch Follikelhormon steigern. Schließlich möge noch erwähnt werden, daß $MgSO_4$ als Co-Wuchsstoff des Bioskomplexes betrachtet werden kann.

Bezüglich aller dieser durch sog. Oligo- oder Spurenelemente ausgeübten Co-Wuchsstoffwirkungen sei auf die zusammenfassende Darstellung bei Bertrand (25 a) verwiesen.

4. Wirkung der „Wuchsstoffe“ als „Spurenbausteine“.

Die Aminosäuren, die sich am Aufbau der Eiweißstoffe beteiligen, sind bekanntlich in biologischer Hinsicht nicht gleichwertig. Manche von ihnen sind unentbehrlich, auch für Mikroorganismen, wie dies Fildes und Mitarbeiter (109) beim Bact. typhi sowie Fildes (107) beim Bac. (Clostr.) botulinus hinsichtlich des Tryptophans und Fildes und Richardson am Bac. (Clostr.) sporogenes bezüglich derselben und einiger anderer Aminosäuren (110) nachgewiesen haben; zu diesen letzteren ist wohl auch das Methionin zu rechnen (526).

Aber nicht nur in qualitativer, sondern auch in quantitativer Hinsicht spielen die Aminosäuren eine bedeutsame Rolle; so ist von verschiedenen Forschern auf den Umstand hingewiesen worden, daß für ein geregeltes Wachstum der Organismen ein bestimmtes Mischungsverhältnis der einzelnen Aminosäuren vorliegen muß.

Wenn wir nun annehmen, daß sich das Protoplasma — und zwar vor allem im Chondriomanteil — aus umfangreichen Symplexen aufbaut, die neben Lipoiden hochmolekulare Eiweißstoffe enthalten, von denen nur einer eine ganz bestimmte Aminosäure aufweist, so kann diese letztere der Menge nach am Aufbau des Symplexes einen so geringen Bruchteil ausmachen, daß sie größenordnungsmäßig als „Wuchsstoff" in Erscheinung tritt. Da aber dieser „Wuchsstoff" entgegen der allgemeinen Definition der Wirkstoffe der Zelle als Baumaterial dient, wird man besser von einem „Spurenbaustein" sprechen. Unter den Aminosäuren nimmt nun das β-Alanin, das — wie wir oben sahen — neben l-Leucin als das Wirksame im Bios II A (285, 514) erkannt wurde, insofern eine Sonderstellung ein, als es kein asymmetrisches Kohlenstoffatom aufweist und daher der optischen Aktivität ermangelt. Es besteht nun die Möglichkeit, daß die Biosynthese des Hefeneiweißes von diesem Spurenbaustein ihren Ausgang nimmt, indem sie diesen mit einer ganz bestimmten anderen Aminosäure, als welche vor allem die Asparaginsäure in Frage kommt, anhydrisch verkuppelt. Wie oben bereits mitgeteilt wurde, konnten nämlich Nielsen und Hartelius (327) eine Wuchsstoffwirkung des β-Alanins gegenüber einer obergärigen Hefe nur dann beobachten, wenn gleichzeitig Asparagin oder Asparaginsäure geboten wurde. Daß bei Abwesenheit der letzteren ein Überschuß von β-Alanin in den Versuchen der beiden genannten Forscher hemmend wirkte, läßt sich mittels der hier entwickelten Vorstellung zwangslos erklären. Es wird nämlich dann das β-Alanin mangels einer genügenden Menge von Asparaginsäure die anderen zum Aufbau des Hefeeiweißes nötigen Aminosäuren abbinden und diese so ihrer eigentlichen Bestimmung, nämlich die geringe Menge der bereits gebildeten Alanin-Asparaginsäure-Verbindung zum Hefeeiweiß weiter aufzubauen, entziehen, was dann eben als Hemmung in Erscheinung tritt. Wenn man eine solche primäre anhydrische Bindung zwischen β-Alanin und Asparaginsäure annimmt, wird es auch verständlich, daß Nielsen und Hartelius (327) β-Alanyl-glycin als unwirksam befunden haben.

Weichhardt (499 a) hat seinerzeit beobachtet, daß asparaginsaures Na erst bei Gegenwart minimaler Mengen aktivierender Substanzen, die hierbei verbraucht werden, von Diphtheriebazillen verwertet wird, und gleichzeitig einen lähmenden Einfluß größerer Mengen der wirksamen Wuchsstoffe festgestellt. Es ist höchstwahrscheinlich, daß es sich auch in diesem Falle um Spurenbausteine handelt und daß unter diesen das β-Alanin eine bevorzugte Rolle spielt.

Solche Spurenbausteine werden sich auch in anderen Eiweißarten vorfinden und es ist daher nicht zu verwundern, wenn nach Dagys (69) bei der Einwirkung von Papayotin auf Kleberproteine Hefenwuchsstoffe entstehen. Auch die aktivierenden Spaltprodukte von Weichardt (499 a) sind vielleicht hierher zu rechnen; ein gleiches gilt möglicherweise auch für die durch Swoboda (465) beobachtete spezifische Wirkung von Aminosäuren auf Hefen.

5. Wuchsstoffe und Symbiose.

Unsere derzeitigen Kenntnisse über den Bau und die Wirkung der Wuchsstoffe haben uns bereits einen tieferen Einblick in die wechselseitigen Beziehungen der Organismen zueinander verschafft.

Von den verschiedenen Arten des Zusammenlebens, der Symbiose im weitesten Sinne des Wortes, spielt vor allem der Parasitismus in der Mikrobiologie eine bedeutsame Rolle. Nahm man früher an, daß der Schmarotzer dem Wirt vor allem die Nährstoffe entzieht, so wissen wir heute, daß der letztere den ersteren auch mit Wuchsstoffen versorgt, was zur Folge hat, daß der Parasit die Fähigkeit zur Wuchsstoffbildung ganz oder teilweise

einbüßt und damit auch das Vermögen der Nahrungsverwertung; dies wird sofort offenbar, wenn man den Parasiten auf eine synthetische Nährlösung bringt.

So beziehen die Hämophilen aus dem Wirtsorganismus ein Häminsystem (Faktor X) und ein Nicotinnucleotid (Faktor V); beim Staphylococcus aureus handelt es sich um Nicotinsäure neben Thiamin. Besonders deutlich tritt der schrittweise Verlust des Vermögens der Ergonausbildung durch parasitische Pilze aber beim Vitamin B_1 zutage. So begnügen sich manche Vertreter der Gattungen Phytophthora, Ustilago und Torula mit einer Komponente des Thiamins, andere benötigen sowohl die Pyrimidin- als auch die Thiazol-Komponente und wieder andere brauchen das gesamte Ergonmolekül (vgl. S. 417).

An dieser Stelle ist auch das sog. Ammenwachstum zu erwähnen, das darauf beruht, daß parasitische Bakterien, die gewohnt sind, ihren Ergonbedarf aus dem Wirtsorganismus zu decken, auf einem Mangelnährboden durch die von anderen Bakterien gebildeten Wuchsstoffe zu üppigem Wachstum angeregt werden.

So kann bei den Hämophilen, z. B. beim Influenzabazillus, im Nährboden der fehlende V-Faktor (Pyridinnucleotid) ersetzt werden durch eine Bakterienart, die zu dessen Bildung befähigt ist; es entsteht dann im Umkreis der Kolonien der letzteren ein „Riesenwachstum" der I. B. (Graßbergersche Form des Ammenwachstums). Fehlt hingegen der nicht-diffundierende X- (Hämin-) Faktor, so ist nur ein Wachstum der I. B. innerhalb oder am Rande der Ammenkolonie möglich (eigentliches Ammenwachstum, Neißersche Form) [vgl. Knorr (201), Kollath (217)].

Zeigen Hämophile trotz Ammenbakterien kein Wachstum, so ist dies ein Zeichen dafür, daß ihnen die von den letzteren gelieferten Ergone nicht genügen (43 a).

Eine Ergonversorgung eines Mikroben durch einen anderen in zeitlicher Folge, also eine Metabiose, liegt in dem durch Orr-Ewing und Reader (343) beobachteten Fall vor, daß Actinomyces (Streptothrix) corallinus, der zum Wachstum Vitamin B_1 benötigt, sich auf einem an diesem Ergon freien Nährboden dann entwickelt, wenn vorher Meningokokken darauf gewachsen waren.

Von der Beeinflußbarkeit einer Bakterienart durch biologische Redoxsysteme anderer macht man bei der Züchtung von Anaerobiern in Mischkultur mit aeroben Bakterien Gebrauch, wobei die letzteren das Oxydationspotential des Nährbodens so stark herabdrücken, daß den ersteren eine Entwicklung ermöglicht wird.

Aber auch Fälle einer gegenseitigen Unterstützung von Mikroorganismen durch wechselseitige Ergonversorgung, also eine echte Symbiose (s. str.) ist bekannt. So können Mucor Ramannianus und Rhodotorula zufolge Müller und Schopfer (303) auf einem thiaminfreien Nährboden wachsen, wobei der Mucor die Pyrimidinkomponente dieses Ergons, die Rhodotorula die Thiazolkomponente liefert. Ein anderer Fall einer künstlichen Symbiose wurde durch Kögl und Fries (206) beschrieben; Polyporus adustus (bzw. P. abietinus) zeigt in Gemeinschaft mit Nematospora gossypii auf synthetischen Nährböden üppiges Wachstum, das beide allein nicht aufweisen. Die Polyporus-Art bestreitet hierbei den Bedarf an Biotin und die Nematospora liefert das Thiamin. Es ist wahrscheinlich, daß auch bei allen natürlichen Symbiosen sich eine solche wechselseitige Versorgung mit Wuchsstoffen wird feststellen lassen.

Um eine Versorgung mit Thiamin scheint es sich auch bei dem durch Fries (114 a) beobachteten wachstumsfördernden Einfluß zu handeln, den ligniphile Bakterien auf holzzerstörende Polyporaceen in synthetischen Nährlösungen ausüben.

Zusammenfassung.

1. Es wird ein mit umfangreichen Literaturausweisen belegter Überblick über die Ergone und sonstigen Wuchsstoffe der Mikroorganismen gegeben. Vitamine, Zoohormone, Pyridin-, Sulfhydril- und Häminsysteme sowie die Auxine werden in ihrer Wirkung als Mikrobenwuchsstoffe behandelt; daran schließt sich eine Besprechung der spezifischen Wuchsstoffe für Sproßpilze (Biosgruppe), für Schimmelpilze und für Bakterien.

2. Es wird der Versuch unternommen, einen Einblick in den mutmaßlichen Mechanismus der Wuchsstoffwirkung unter Heranziehung der verschiedenen Erklärungsmöglichkeiten zu geben.

a) Bloße Milieuänderungen, wie Verschiebungen des Redoxpotentials und des p_H sowie Änderungen der Viskosität und der Oberflächenspannung können bereits zu einer Wachstumsbegünstigung der Mikroorganismen Veranlassung geben. Redoxsysteme können sich auch als Agon am Aufbau von Enzymen beteiligen und so in den Betriebsstoffwechsel eingreifen.

b) Die Voraussetzung für die Wirkung der echten Ergone aber wird in einer Bindung derselben an die im Ganzheitsverbande der lebenden Zelle eingeordneten, aktivierten Eiweißstoffe erblickt, wodurch den Enzymen ähnliche Wirksysteme entstehen, die aber zum Unterschied von jenen Katalysatoren Eiweißstoffe des „lebenden" Plasmas aufweisen, wodurch sie eben zu Ergonen, d. h. zu Wirkstoffen werden, die auf die „lebende" Zelle wirken. Der Schauplatz dieser Vorgänge wird in das Chondriom verlegt.

c) Es wird darauf hingewiesen, daß manche der anscheinend als Wuchsstoffe wirkenden Substanzen nur Bestandteile solcher sind und erst durch die Mikroorganismen in die eigentlichen Wuchsstoffe übergeführt werden (Pyrimidin- und Thiazolkomponente des Thiamins). Auch kann es sich um bloße Hilfsstoffe der Ergone, sog. Co-Wuchsstoffe, handeln (z. B. Inosit beim Biotin sowie Oligoelemente).

d) Die Möglichkeit der Verwendung von „Wuchsstoffen" als plastisches Material für den Zellaufbau wird erörtert und vor allem auf das β-Alanin hingewiesen. Es würde sich in diesem Falle nicht um einen Wirkstoff, sondern um einen Spurenbaustein handeln.

3. Die Bedeutung der Wuchsstoff-Frage für die gegenseitigen Beziehungen der Mikroben zueinander sowie zu anderen Organismen (Symbiose, Metabiose und Parasitismus) wird aufgezeigt.

Schrifttums-Ausweis.

1. Abdel-Salaam, A., and Leong, P. Ch., Biochem. Journ. Vol. 32. 1938. p. 958. — 2. Adler, E. und Euler, H. v., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 225. 1934. S. 41. — 3. Ahmad, B., Biochem. Journ. Vol. 24. 1930. p. 860. — 4. Allison, F. E., Hoover, S. R., and Burk, D., Science [New York]. Vol. 78. 1933. p. 217. — 5. Almoslechner, E., Planta. Vol. 22. 1934. p. 515. — 6. Almquist, H. J., Pentler, C. F., and Mecchi, E., Proc. Soc. exp. Biol. Med. Vol. 38. 1938. p. 336. — 7. Amlinsky, I. E., Bull. Biol. Med. exp. URSS. Vol. 3. 1937. p. 141. — 8. Ammon, R. und Dirscherl, W., Fermente, Hormone, Vitamine. Leipzig 1938. — 9. Anderson, L., Amer. Journ. of Hyg. Vol. 13. 1931. p. 164. — 10. Anderson, R. J., and Roberts, E. G., Journ. biol. Chem. Vol. 89. 1930. p. 611. — 11. Annok, I., és Buchgraber, J., Magyar orvosi Archivum. Vol. 34. 1933. p. 220. — 12. Arloing, F., Morel, A., Josserand, A., Thévenot, L., et Caille, R., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 126.

1937. p. 5. — 13. Arnaudi, C., Boll. Sez. ital. Soc. intern. Microbiol. Vol. 10. 1938. p. 163. — 14. Avery, O. T., and Morgan, H. J., Proc. Soc. exp. Biol. Med. Vol. 19. 1921. p. 113. — **15.** Baestle, R., Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 41. 1924. S. 251. — 15a. Ball, E., Journ. of Bact. Vol. 36. 1938. p. 559. — 16. Barger, G., Bergel, F., and Todd, A. R., Nature [London]. Vol. 136. 1935. p. 259; Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 68. 1935. S. 2257. — 17. Barnes, H., O'Brien, J. R. P., and Reader, V., Biochem. Journ. Vol. 26. 1932. p. 2035. — 18. Baumann, C. A., Steenbock, H., Ingraham, M. A., and Fred, E. B., Journ. biol. Chem. Vol. 103. 1933. p. 339. — 19. Belitzer, W., Advances mod. Biol. Vol. 8. 1938. p. 141; ref.: Chem. Zentralbl. 1938. II. S. 713. — 20. Belloc, G., Fabre, R., et Simonnet, H., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 191. 1930. p. 160. — 21. Berencsi, G. und Illényi, A., Biochem. Ztschr. Bd. 298. 1938. S. 298. — 22. Bernhauer, K., Biochem. Ztschr. Bd. 286. 1936. S. 60. — Bernhauer, K., Görlich, B. und Köcher, E., Biochem. Ztschr. Bd. 286. 1936. S. 60. — 24. Bersin, Th., Ergebn. d. Enzymforsch. Bd. 4. 1935. S. 68. — 25. Ders., Sitz.-Ber. Ges. Beförd. ges. Naturwiss. Marburg. Bd. 71. 1938. S. 57. — 25a. Bertrand, G., Ergebn. d. Vitamin- u. Hormonforsch. Bd. 2. 1939. S. 192. — 26. Bertrand, G., et Weber, A. Ph., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 202. 1936. p. 1629. — 26a. Bills, Ch. E., und Mitarbeiter, Journ. biol. Chem. Vol. 87. 1930. p. 259. — 26b. Bishop, L. R., and Rainbow, C., Journ. Inst. Brew. Vol. 45 [N. S. 36] 1939. p. 33. — 27. Blix, G., und Rydin, H., Upsala Lakeffören. Förhandl. (N. F.) Bd. 40. 1934. S. 175; ref.: Chem. Zentralbl. 1935 II. S. 1398. — 28. Blumer, S., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 458. — 29. Boas, F., Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 52. 1934. S. 126. — 30. Ders., Angew. Bot. Bd. 18. 1936. S. 348. — 31. Ders. und Bauer, R., Protoplasma. Bd. 27. 1936. S. 106. — 32. Boissevain, Ch. H., and Spillane jr., J. H., Amer. Rev. Tubercul. Vol. 35. 1937. p. 661. — 33. Bomskov, Ch., Methoden d. Vitaminforsch. Leipzig 1935. — 34. Bomskov, Ch., Methoden d. Hormonforsch. Bd. I. Leipzig 1937. — 35. Bonner, J., Biol. Zentralbl. Bd. 52. 1932. S. 565. — 35a. Bonner, J., and Erickson, J., Amer. Journ. Bot. Vol. 25. 1938. p. 685. — 36. Borsook, H., Davenport, H. W., Jeffreys, C. E. P., and Warner, R. C., Journ. biol. Chem. Vol. 117. 1937. p. 237. — 37. Borsook, H., Ellis, E. L., and Huffman, H. M., Journ. biol. Chem. Vol. 117. 1937. p. 281. — 38. Borsook, H., and Jeffreys, C. S., Science [New York]. (N. S.) Vol. 83. 1936. p. 397. — 38a. Bortels, H., Biochem. Ztschr. Bd. 182. 1927. S. 301. — 38b. Bortels, H., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 333 u. Bd. 8. 1937. S. 1. — 39. Bourne, G., and Allen, R., Nature [London]. Vol. 136. 1935. p. 185. — 40. Boysen-Jensen, P., Biochem. Ztschr. Bd. 236. 1931. S. 205; Bd. 239. 1931. S. 243. — 41. Ders., Ebenda. Bd. 250. 1932. S. 270. — 42. Ders., Die Wuchsstofftheorie. Jena 1935. — 43. Ders., Planta. Vol. 26. 1937. p. 584. — 43a. Brandt, H., Dtsch. tierärztl. Wochenschr. Bd. 46. 1938. S. 646. — 44. Brannon, M. A., Science [New York]. (N. S.) Vol. 86. 1937. p. 353. — 45. Bredereck, H. und Mittag, R., Ergebn. d. Vitamin. u. Hormonforsch. 2. Aufl. Leipzig 1938. — 45a. Brockmann, H., Ergebn. d. Vitamin- u. Hormonforsch. Bd. 2. 1939. S. 55. — 46. Brockmann, H. und Maier, K., Ergebn. Hyg. Bakt. Immun. Forsch. u. exp. Therapie. Bd. 20. 1937. S. 155. — 47. Brown, N. A., and Gardner, F. E., Phytopathology. Vol. 36. 1936. p. 708. — 48. Bünning, E., Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 52. 1934. S. 423; Naturwiss. Bd. 22. 1934. S. 291. — 49. Burgeff, H., Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bd. 52. 1934. S. 384. — 49a. Burk, D., and Horner, C. K., Proc. Soil Sci. Soc. USA. Vol. 1. 1937. p. 213. — 50. Buston, H. W., and Kasinathan, S., Biochem. Journ. Vol. 27. 1933. p. 1859. — 51. Buston, H. W., Kasinathan, S., and Wylie, S. M., Ann. Bot. [N. S.] Vol. 2. 1938. p. 373. — 52. Buston, H. W., and Pramanik, B. N., Biochem. Journ. Vol. 25. 1931. p. 1656. — 53. Dies., Ebenda. Vol. 25. 1931. p. 1671. — **54.** Cailleau, R., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 124. 1937. p. 1042. — 55. Carteni, A., e Morelli, A., Arch. Scienze biol. Vol. 23. 1937. p. 335. — 56. Castille et Ruppol, E., Bull. Acad. Roy. Méd. Belg. (5) T. 13. 1933. p. 48; ref.: Chem. Zentralbl. 1934 I. S. 3607. — 57. Chaix, P., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 206. 1938. p. 1053. — 58. Chargaff, E., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 197. 1933. p. 946. — 59. Chick, H., Copping, A. M., and Edgar, C. E., Biochem. Journ. Vol. 29. 1935. p. 722. — 60. Cohen, B., and Schwachman, H., Journ. of Bact. Vol. 29. 1935. p. 54.; Vol. 31. 1936. p. 67. — 61. Collin, R., Les hormones. Paris 1938. — 62. Coolidge, Th. B., Nature [London]. Vol. 128. 1931. p. 223; Journ. biol. Chem. Vol. 98. 1932. p. 755. — 63. Copping, A. M.,

Biochem. Journ. Vol. 23. 1929. p. 1050. — 64. Cornil, L., et Ranque, J., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 125. 1937. p. 69. — 65. Coward, K. H., Biochem. Journ. Vol. 19. 1925. p. 240. — **66.** Dagys, J., Protoplasma. Vol. 24. 1935. p. 14. — 67. Ders., Ebenda. Vol. 26. 1936. p. 20. — 68. Ders., Ebenda. Vol. 28. 1937. p. 205. — 69. Ders., Mem. Faculté Sci. Univ. Vytautas le Grand. T. 11. 1937. p. 453. — 70. Dammann, E., Rotini, O. T. und Nord, F. F., Biochem. Ztschr. Bd. 397. 1938. S. 184. — 71. Dies., Naturwiss. Bd. 26. 1938. S. 413. — 72. Damon, S. R., Journ. Biol. Chem. Vol. 56. 1923. p. 895. — 73. Ders., Journ. Path. Bact. Vol. 27. 1924. S. 163. — 74. Davidsohn, H., Biochem. Ztschr. Bd. 150. 1924. S. 304. — 75. Day, P. L., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 56. 1934. S. 452. — 76. Devereux, E., and Tanner, F. W., Journ. of Bact. Vol. 14. 1927. p. 317. — 77. Dittmar, C., Biochem. Ztschr. Bd. 279. 1935. S. 99. — 78. Dolk, H. E., and Thimann, K. V., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 18. 1932. p. 30. — 79. Dooren de Jong, L. E. den, Arch. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 1. — 80. Dorfman, A., Koser, St. A., and Saunders, F., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 60. 1938. p. 2004. — 80a. Doudoroff, M., Enzymologia. Vol. 5. 1938. p. 239. — 81. Drummond, J. C., and Gunther, E. R., Nature [London]. Vol. 126. 1930. p. 398. — 82. Drummond, J. C., and Whitmarsh, J. M., Journ. Inst. Brewing. Vol. 38. 1932. p. 264. — **83.** Eagles, B. A., Wood, A. J., and Bowen, J. F., Canadian Journ. Res., Sect. B. Vol. 14. 1936. p. 151. — 84. Eastcott, E. V., Proc. Trans. Roy. Soc. Canada. Sect. III. Vol. 17. (3.) 1923. p. 157. — 85. Dies., Ebenda. Vol. 18. (3.) 1924. p. 117. — 86. Dies., Ebenda. Vol. 22. (3.) 1928. p. 267. — 87. Dies., Journ. phys. Chem. Vol. 32. 1928. p. 1094. — 88. Ehrismann, O., Ztschr. Hyg., Infektionskrankh. Bd. 118. 1936. S. 544. — 89. Eidelman, M. M., Problems Nutrit. Vol. 6. 1937. p. 55; ref.: Chem. Zentralbl. 1938 II. S. 879. — 90. Elder, M. L., Trans. Roy. Soc. Canada. Sect. III. Vol. 30. (3.) 1936. p. 89. — 91. Ellinger, P. und Koschara, W., Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 66. 1933. S. 315. — 92. Elliott, A. M., Physiol. Zool. Bd. 11. 1938. S. 31. — 93. Ellis, N. R., Palmer, L. J., and Barnum, G. L., Journ. Nutrit. Vol. 6. 1935. p. 443. — 93a. Elvehjem, C. A., Journ. Biol. Chem. Vol. 90. 1931. p. 111. — 94. Elvehjem, C. A., Ergebn. Vitamin- u. Hormonforsch. Bd. 1. 1938. S. 140. — 95. Enders, C. und Hegendörfer, M., Biochem. Ztschr. Bd. 298. 1938. S. 16. — 95a. Dies., Ebenda. Bd. 299. 1938. S. 346. — 96. Euler, H. v., Ark. Kem. Mineral. Geol. Bd. 11 A, Nr. 12; Bd. 11 B, Nr. 45. 1934. — 97. Ders., Ergebn. Vitamin- u. Hormonforsch. Bd. 1. 1938. S. 159. — 98. Euler, H. v. und Hellström, H., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 190. 1930. S. 189. — 99. Euler, H. v. und Larsson, H., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 223. 1934. S. 189. — 100. Euler, H. v. und Malmberg, M., Biochem. Ztschr. Bd. 291. 1937. S. 368. — 101. Euler, H. v., Malmberg, M., Robežnieks, I. und Schlenk, F., Naturwiss. Bd. 26. 1938. S. 45. — 102. Euler, H. v., Myrbäck, K. und Mitarbeiter, Ztschr. physiol. Chem. Bd. 190. 1930. S. 93.; Bd. 199. 1931. S. 189. — 103. Euler, H. v. und Philipson, T., Biochem. Ztschr. Bd. 245. 1932. S. 418. — 104. Euler, H. v. und Vestin, R., Naturwiss. Bd. 25. 1937. S. 416. — **104 a.** Faguet, M., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 126. 1937. p. 856. — 105. Farrell, L. N., Trans. Roy. Soc. Canada. Sect. III. Vol. 29. (3.) 1935. p. 167. — 106. Farrell, L. N., and Lochhead, A. G., Canadian Journ. Res. Vol. 5. 1931. p. 539. — 107. Fildes, P., Brit. Journ. exp. Pathol. Vol. 16. 1935. p. 309. — 108. Ders., Ebenda. Vol. 19. 1938. p. 239. — 109. Fildes, P., Gladstone, G. P., and Knight, B. C. J. G., Brit. Journ. exp. Pathol. Vol. 14. 1933. p. 189. — 110. Fildes, P., and Richardson, G. M., Brit. Journ. exp. Pathol. Vol. 16. 1935. p. 326. — 110a. Fink, H., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 210. 1932. S. 197. — 111. Fink, H. und Zenger, E., Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 51. 1934. S. 129. — 112. Fischer, A. und Nystroem, P., Biochem. Ztschr. Bd. 262. 1933. S. 364. — 112a. Fischer, H., Treibs, A. und Zeile, K., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 193. 1930. S. 138; Bd. 195. 1931. S. 1. — 112b. Fischer, H. und Seemann, C. v., Angew. Chem. Bd. 49. 1936. S. 461. — 113. Flancówna, P., Ann. Soc. Bot. Pol. T. 10. 1933. p. 521. — 114. Freedman, L., and Funk, C., Journ. Metab. Res. Vol. 1. 1922. p. 469. — 114a. Fries, N., Symb. bot. Upsal. T. III: 2. 1938. — 114b. Fromageot, Cl., et Tchang, J. C., Arch. Mikrobiol. Bd. 9. 1938. S. 424, 434. — 115. Fuchs, J., Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 53. 1936. S. 17. — 116. Fukumoto, J., and Shimomura, H., Journ. Agric. chem. Soc. Japan. Vol. 13. 1937. p. 65. — 117. Fulmer, E. I., and Huesselmann, B., Iowa State Coll. Journ. Sci. Vol. 1. 1927. p. 411. — 118. Ful-

mer, E. I., Underkofler, L. A., and Lesh, J. B., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 58. 1936. p. 1356. — 119. Funk, C., and Freedman, L., Journ. Biol. Chem. Vol. 56. 1923. p. 851. — **120.** Gagyi, J. v., Klin. Wochenschr. Bd. 15. 1936. S. 190. — 120 a. Georgi, C. E., and Beguin, A. E., Nature [London]. Vol. 143. 1939. p. 25. — 121. Ghosh, J. C., Journ. Indian chem. Soc. Vol. 15. 1938. p. 1. — 122. Ghosh, J. C. und Rakshit, P. C., Biochem. Ztschr. Bd. 289. 1936. S. 15. — 123. Giroud, A., L'acide ascorbique dans la cellule et les tissues. Berlin 1938. — 124. Gistl, R., Arch. Mikrobiol. Bd. 7. 1936. S. 177. — 125. Glanzmann, E., Schweiz. med. Wochenschr. Bd. 3. 1922. S. 57, 84. — 126. Goljanitzki, I. A., and Bruschkowa, K. A., Biol. Journ. Vol. 5. 1936. p. 1083; ref.: Chem. Zentralbl. 1938 I. S. 4073. — 126 a. Gollmick, F., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 93. 1935/36. S. 421. — 127. Gorcica, H. J., Peterson, W. H., and Steenbock, H., Journ. Nutrit. Vol. 9. 1935. p. 691. — 128. Greaves, J. E., Journ. Bacteriol. Vol. 30. 1935. p. 143. — 129. Green, D. E., Proc. Roy. Soc. London. Vol. B 114. 1933/34. p. 423. — 130. Gromakovski, P. I., Microbiologija. Vol. 5. 1936. p. 557; ref.: Chem. Zentralbl. 1937 I. S. 1817. — 131. Ders., Ebenda. Vol. 5. 1936. p. 747; ref.: Chem. Zentralbl. 1937 I. S. 4248. — 132. Guha, B. C., Indian Journ. med. Res. Vol. 19. 1932. p. 977. — 133. Guha, B. C., and Gupta, G. C. D., Sci. and Cult. Vol. 2. 1937. p. 588. — 134. Guilliermond, A., Fontaine, M., et Raffy, A., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 201. 1935. p. 1077. — 135. Gunderson, M. F., and Skinner, C. E., Plant Physiol. Vol. 9. 1935. p. 807. — 136. Guttenberg, H. v., Planta. Vol. 20. 1933. p. 230. — 137. Ders., Fortschr. d. Bot. Bd. 5. 1935. S. 269. — 138. György, P., Pfaundler-Schloßmanns Handb. d. Kinderheilkde. 4. Aufl. Bd. 1. — **138 a.** Haagen-Smit, A. J., Ergebn. d. Vitamin- u. Hormonforsch. Bd. 2. 1939. S. 347. — 139. Hahn, F. V. v., Kolloid-Ztschr. Bd. 40. 1926. S. 321. — 140. Hall, H. H., and James, L. H., Journ. of Bact. Vol. 25. 1933. p. 67. — 141. Hamasaki, H., Jap. Journ. med. Sci. Trans., III. Biophysics. Vol. 2. 1932. p. 185. — 142. Hanak, J. und Schwarz, L., Chem. Obzor. Bd. 11. 1936. S. 81. — 143. Hansen, P. A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 289. — 144. Hartelius, V., Compt. Rend. Labor. Carlsberg. T. 19. No. 8; Biochem. Ztschr. Bd. 261. 1933. S. 76. — 145. Ders., Biochem. Ztschr. Bd. 261. 1933. S. 76. — 146. Ders., Ebenda. Bd. 261. 1933. S. 89. — 147. Ders., Compt. Rend. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 22. 1937. Nr. 5. — 148. Ders., Ebenda. T. 22. 1938. Nr. 12.; Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 55. 1938. S. 177. — 149. Hartelius, V. und Hjorth-Hansen, S., Compt. Rend. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 21. 1936. No. 11. — 150. Hartelius, V., et Nielsen, N., Compt. Rend. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 22. 1938. p. 281; Biochem. Ztschr. Bd. 298. 1938. S. 125. — 151. Hasselt, W. van, Onderzoekingen over het Bios-Vraagstuk. Diss. Utrecht 1935. — 152. Hawker, L. E., Ann. of Bot. Vol. 50. 1936. p. 699. — 152 a. Haworth, W. N., and Hirst, E. L., Ergebn. d. Vitamin- u. Hormonforsch. Bd. 2. 1939. S. 160. — 153. Heiduschka, A. und Lindner, H., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 181. 1929. S. 15. — 154. Heilbron, I. M., Parry, E. G., and Phipers, R. F., Biochem. Journ. Vol. 29. 1935. p. 1376. — 155. Heise, F. H., and Steenken jr., Wm., Ann. intern. Med. Vol. 11. 1937. p. 1039. — 156. Hermann, S. und Fodor, N., Biochem. Ztschr. Bd. 276. 1935. S. 323. — 157. Hewitt, L. F., Oxidation-Reduction Potentials in Bacteriology and Biochemistry. 4. Aufl. London 1936. — 158. Heyn, A. N. J., Kon. Akad. Wet. Amsterdam, Proc. Bd. 38. 1935. S. 1074. — 159. Hills, G. M., Biochemical Journ. Vol. 32. 1938. p. 383. — 160. Hoder, F., Med. Klinik. Bd. 28. 1932. S. 1430. — 161. Hoder, F. und Breuer, A., Ztschr. Immun.-Forsch. exp. Therapie. Bd. 70. 1931. S. 279. — 162. Hoet, J., Leclef, G., et Delrue, G., Arch. int. de physiol. T. 23. 1924. p. 284. — 163. Holiday, E. R., Biochemical Journ. Vol. 31. 1937. p. 1299. — 164. Holtz, P. und Triem, G., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 248. 1937. S. 1. — 165. Hopkins, F. G., Journ. Biol. Chem. Vol. 84. 1929. p. 269. — 166. Ders., Compt. Rend. Labor. Carlsberg. T. 22. 1938. p. 226. — 166 a. Horowitz-Wlassowa, L., and Buchmann, N., Problems Nutrit. Vol. 7. 1938. p. 66. — 167. Hosoya, S., Kuwashima, Y., Kayo, S., Oda, M., and Kagabe, K., Proc. Imp. Acad. Tokyo. Vol. 12. 1936. p. 67. — 168. Hume, E. M., Smith, H. H., and Smedley-Maclean, I., Biochem. Journ. Vol. 22. 1928. p. 27. — **169.** I. G. Farbenindustrie, A.-G., DRP. Nr. 569 973 v. 19. I. 1933. — 170. Dies., DRP. Nr. 577 258 v. 11. V. 1933. — 170 a. Dies., DRP. Nr. 670 098 v. 12. V. 1937; Nr. 670 922 v. 8. VII. 1937. — 171. Illies, R., Brennerei-Ztg. Bd. 54. 1937. S. 155, 159. — 172. Ders., Ztschr. f. Spiritusind. Bd. 61. 1938. S. 259. — 173. Ders., Ebenda. Bd. 61. 1938. S. 267; Bd. 62.

1939. S. 59. — 174. Imschenetzki, A. A., Bull. Acad. Sci. URSS. 1932. p. 1559. — 175. Ingraham, M. A., and Baumann, C. A., Journ. Bacteriol. Vol. 28. 1934. p. 31. — 175a. Ingraham, M. A., and Steenbock, H., Biochemical Journ. Vol. 29. 1935. p. 2553. — 175b. Itzerott, D., Arch. f. Mikrobiol. Bd. 9. 1938. S. 368. — **176.** Jameson, H. L., Drummond, J. C., and Coward, K. H., Biochem. Journ. Vol. 16. 1922. p. 482. — 177. Janke, A. und Lacroix, H., Biochem. Ztschr. Bd. 190. 1927. S. 67; Bd. 215. 1929. S. 460. — 177a. Janke, A. und Sorgo, F., Arch. Mikrobiol. Bd. 10. 1939. S. 265. — 178. Jansen, B. C. P., Nature [London]. Vol. 135. 1935. p. 267. — 179. Janssens, Em., Arch. intern. Physiol. Bd. 37. 1933. S. 70. — 180. Jarussowa, N. S., and Jefremow, W. W., Problems Nutrit. Vol. 4. 1935. p. 137; ref.: Chem. Zentralbl. 1937 I. S. 3508. — **181.** Karrer, P., Helv. chim. Acta. Vol. 12. 1929/30. p. 1142. — 182. Ders., Ergebn. d. Vitamin- u. Hormonforsch. Bd. 2. 1939. S. 381. — 183. Karrer, P., Helfenstein, Wehrli, Pieper und Morf, Helv. chim. Acta. Vol. 14. 1931. p. 614. — 184. Kashevnik, L. D., Bull. Biol. Med. exp. URSS. Vol. 3. 1937. p. 81; ref.: Chem. Zentralbl. 1937 II. S. 2860. — 185. Keilin, D., Proc. Roy. Soc. Vol. B 106. 1930. p. 418. — 186. Ders., Ergebn. d. Enzymforsch. Bd. 2. 1933. S. 239. — 187. Kendall, A. I., and Chinn, H., Journ. infect. Diseases. Vol. 62. 1938. p. 330. — 188. Kerl, I., Ztschr. f. Bot. Bd. 31. 1937. S. 129. — 189. Kerr, R. W., Proc. Soc. exp. Biol. Med. Vol. 25. 1928. p. 307. — 190. Kertesz, Z. I., Biochemical Journ. Vol. 32. 1938. p. 621. — 191. Kinnersley, H. W., O'Brien, J. R., and Peters, R. A., Biochem. Journ. Vol. 27. 1933. p. 232; Journ. Physiol. Vol. 76. 1932. p. 17 P. — 192. Kinnersley, H. W., O'Brien, J. R., Peters, R. A., and Reader, V., Biochem. Journ. Vol. 27. 1933. p. 225. — 193. Kinnersley, H. W., and Peters, R. A., Biochemical Journ. Vol. 32. 1938. p. 697. — 194. Kligler, I. J., and Grosowitch, N., Nature [London]. Vol. 142. 1938. p. 76. — 195. Kligler, I. J., and Guggenheim, K., Journ. of Bact. Vol. 35. 1938. p. 141. — 196. Knight, B. C. J. G., Proc. Roy. Soc. Vol. B 124. 1937. p. 8. — 197. Ders., Nature [London]. Vol. 139. 1937. p. 628; Biochemical Journ. Vol. 31. 1937. p. 731, 966. — 198. Knight, B. C. J. G., and Fildes, P., Journ. of Physiology. Vol. 78. No. 2. Proc. 1933. p. 6. — 199. Dies., Brit. Journ. exp. Pathol. Vol. 14. 1933. p. 112. — 200. Knight, B. C. J. G., and McIlwain, H., Biochemical Journ. Vol. 32. 1938. p. 1241. — 201. Knorr, M., Ergebn. Hyg. Bakt. Immun.-Forsch. u. exp. Therapie. Bd. 7. 1925. S. 641. — 202. Kögl, F., Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 68 A. 1935. S. 16. — 203. Ders., Svensk. Kem. Tidskr. Vol. 48. 1936. p. 145. — 204. Ders., Naturwiss. Bd. 25. 1937. S. 465. — 205. Kögl, F. und Erxleben, H., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 227. 1935. S. 51. — 206. Kögl, F. und Fries, N., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 249. 1937. S. 93. — 207. Kögl, F. und Haagen-Smit, A. J., Kon. Akad. Wet. Amsterdam. Proc. Bd. 34. 1931. S. 1411. — 208. Dies., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 243. 1936. S. 209. — 209. Kögl, F., Haagen-Smit, A. J. und Erxleben, H., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 228. 1934. S. 90. — 210. Kögl, F., Haagen-Smit, A. J. und Tönnis, B., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 220. 1933. S. 162. — 211. Kögl, F. und Hasselt, W. van, Ztschr. physiol. Chem. Bd. 242. 1936. S. 74. — 212. Dies., Ebenda. Bd. 243. 1936. S. 189. — 213. Kögl, F. und Kostermans, D. G. F. R., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 228. 1934. S. 113. — 214. Kögl, F. und Tönnis, B., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 242. 1936. S. 43. — 215. Kögl, F. und Wagtendonk, W. J. van, Rec. Trav. chim. Pays-Bas. T. 57. 1938. p. 747. — 216. Kollath, W., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 93. 1924. S. 506. — 217. Ders., Ebenda. Bd. 95. 1925. S. 158. — 218. Ders., Ebenda. Bd. 95. 1925. S. 279. — 219. Ders., Ebenda. Bd. 100. 1926. S. 97. — 220. Ders, Klin. Wochenschr. Bd. 6. 1927. S. 13. — 221. Ders., Wiener Klin. Wochenschr. Bd. 44. 1931. S. 277; Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 101. 1931. S. 332. — 222. Ders., Arch. exp. Pathol. Pharmakol. Bd. 168. 1933. S. 424; Bd. 170. 1933. S. 285. — 223. Ders., Angew. Chem. Bd. 49. 1936. S. 770. — 224. Ders., Ergebn. Hyg. Bakt. Immun.-Forsch. u. exp. Therapie. Bd. 21. 1938. S. 269. — 224a. Ders., Umschau. Bd. 49. 1938. S. 1121. — 225. Kollath, W. und Leichtentritt, B., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 97. 1926. S. 119. — 225a. Koningsberger, V. J., and Verkaik, B., Rec. Trav. bot. néerl. T. 35. 1938. p. 1. — 226. Kono, M., Journ. Soc. chem. Ind. Japan. Vol. 31. 1928. p. 213. — 227. Koser, St. A., Chinn, B. D., and Saunders, F., Journ. of Bact. Vol. 36. 1938. p. 57. — 228. Koser, St. A., Dorfmann, A., and Saunders, F., Proc. Soc. exp. Biol. Med. Vol. 38. 1938. p. 311. — 229. Koshiro, F., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 97. 1925. S. 31. — 230. Kos-

sowicz, A., Ztschr. f. d. landw. Versuchswes. in Österreich. Bd. 6. 1903. S. 27. — 231. Ders., Ebenda. Bd. 9. 1906. S. 688. — 232. Ders., Einführung in die Mykologie d. Genußmittel u. in die Gärungsphysiol. Berlin 1911. — 233. Krizenecky, J. und Nevalonnyj, M., Ztschr. Unters. Lebensm. Bd. 66. 1933. S. 278. — 234. Kuhn, R., Naturwiss. Bd. 25. 1937. S. 225. — 235. Kuhn, R. und Boulanger, Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 69. 1936. S. 1557. — 236. Kuhn, R., György, P. und Wagner-Jauregg, Th., Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 66. 1933. S. 317. — 237. Kuhn, R. und Lederer, E., Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 64. 1931. S. 1349. — 238. Kuhn, R., Wagner-Jauregg, Th., Klaveren, F. W. und Vetter, H., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 234. 1935. S. 196. — 239. Kuhn, R. und Mitarbeiter, Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 71. 1938. S. 1118, 1534; Bd. 72. 1939. S. 309, 310. — **240.** Lacroix, H., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 76. 1928. S. 417. — 241. Landy, M., Nature [London]. Vol. 142. 1938. S. 618. — 242. Laquer, F., Hormone und innere Sekretion. 2. Aufl. Dresden u. Leipzig 1934. — 243. Ders., Ztschr. Vitaminforsch. Bd. 7. 1938. S. 334. — 244. Lava, V. G., Ross, R., and Blanchard, K. C., Philippine Journ. Sci. Vol. 59. 1936. p. 493. — 245. Lavollay, J., et Laborey, F., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 205. 1937. p. 179. — 246. Lederer, E., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 197. 1933. p. 1694. — 247. Ders., Les Carotenoides des Plantes. Paris 1934. — 247a. Ders., Bull. Soc. Chim. biol. T. 20. 1938. p. 611. — 248. Lehner, A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 97. 1937. S. 69. — 249. Leigh-Clare, J. L., Biochem. Journ. Vol. 21. 1927. p. 368. — 250. Leitner, J., Klin. Wochenschr. Bd. 16. 1937. S. 1423. — 251. Lemberg, R., Cortis-Jones, B., and Norris, M., Biochemical Journ. Vol. 32. 1938. p. 149. — 252. Lentze, Fr. A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 118. 1930. S. 51. — 253. Leonian, L. H., Journ. agric. Res. Vol. 51. 1935. p. 277. — 254. Ders., Bot. Gazette. Vol. 97. 1936. p. 854. — 255. Leonian, L. H., and Lilly, V. G., Amer. Journ. Bot. Vol. 24. 1937. p. 135. — 256. Dies., Ebenda. Vol. 24. 1937. p. 700. — 257. Lesh, J. B., Underkofler, L. A., and Fulmer, E. I., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 60. 1938. p. 2505. — 257a. Levene, P. A., and Mühlfeld, M., Journ. biol. Chem. Vol. 57. 1923. p. 341. — 258. Levine, M., and Chargaff, E., Amer. Journ. Bot. Vol. 24. 1937. p. 461. — 259. Link, G. K., Nature [London]. Vol. 140. 1937. p. 507. — 260. Link, G. K., Wilcox, H. A., and Link, A. D., Bot. Gazette. Vol. 98. 1937. p. 816. — 261. Lipmann, F., Nature [London]. Vol. 138. 1936. p. 1097. — 262. Ders., Enzymologia. Vol. 4. 1937. p. 65. — 263. Lipschitz, M. A., Potter, R. van, and Elvehjem, C. A., Biochemical Journ. Vol. 32. 1938. p. 474. — 264. Lohmann, K., Biochem. Ztschr. Bd. 254. 1932. S. 332. — 265. Lohmann, K. und Schuster, Ph. Naturwiss. Bd. 25. 1937. S. 416. — 266. Lojkin, M., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 281. — 267. Loofbourow, J. R., and Dwyer, S. C., Science. [New York.] (N. S.) Vol. 88. 1938. p. 191. — 268. Lucas, G. H. W., Trans. Roy. Soc. Canada, Sect. III. Vol. 17. (3) 1923. p. 157. — 269. Ders., Journ. Physical. Chem. Vol. 28. 1924. p. 1180. — 270. Lund, A., Compt. Rend. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 21. 1936. p. 231. — 271. Lunde, G. und Lie, J., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 254. 1938. S. 227. — 272. Lwoff, A., et Dusi, H., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 205. 1937. p. 630, 756, 882. — 273. Lwoff, A., et Lwoff, M., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 203. 1936. p. 520; Proc. Roy. Soc. Ser. B. Vol. 122. 1937. p. 352. — 274. Dies., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 203. 1936. p. 896; Proc. Roy. Soc. Ser. B. Vol. 122. 1937. p. 360. — 275. Dies., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 126. 1937. p. 644. — 276. Dies., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 204. 1937. p. 1510; Proc. Roy. Soc. Ser. B. Vol. 124. 1937. p. 5. — 277. Lwoff, M., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 126. 1937. p. 771. — **278.** Mc-Burney, Ch. H., Bollen, W. B., and Williams, R. J., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 21. 1935. p. 301. — 278a. Mc-Hargue, J. S., and Calfee, R. K., Plant Physiol. Vol. 6. 1931. p. 559. — 279. Malm, M. und Lundin, H., Almgren-Festschrift. 26. XII. 1938. — 280. Meiklejohn, A. P., Biochem. Journ. Vol. 31. 1937. p. 1441. — 280a. Metz, O., Arch. Mikrobiol. Bd. 1. 1930. S. 197. — 281. Mezzadroli, G., et Vicentini, V., Bull. Assoc. Chimistes. Vol. 54. 1937. p. 929. — 282. Michaelis, L., Oxydations-Reduktions-Potential. 2. Aufl. Berlin 1933. — 283. Miller, W. L., Science [New York]. Vol. 59. 1924. p. 197. — 284. Ders., Trans. Roy. Soc. Canada, Sect. III. Vol. 28 (3). 1934. p. 185. — 285. Ders., Ebenda. Vol. 30 (3). 1936. p. 99. — 286. Ders., Ebenda. Vol. 31 (3). 1937. p. 159. — 287. Miller, W. L., Eastcott, E. V., and Sparling, A. M., Trans. Roy. Soc. Canada, Sect. III. Vol. 26 (3). 1932. p. 165. — 288. Mirimanoff, A., et Raffy, A., Helv. chim. Acta. T. 21. 1938.

p. 1004; Bull. Soc. Chim. biol. T. 20. 1938. p. 1166. — 289. Mittasch, A., Über katalytische Verursachung im biologischen Geschehen. Berlin 1935. — 290. Mockeridge, F. A., Ann. of Bot. Vol. 38. 1924. p. 723. — 291. Möller, E. F., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 254. 1938. S. 285. — 292. Moreau, F., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 206. 1938. p. 369. — 293. Ders., Ebenda. T. 206. 1938. p. 1315. — 294. Ders., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 128. 1938. p. 819. — 295. Morell, Th., Dtsch. med. Wochenschr. Bd. 64. 1938. S. 1649. — 296. Ders., Ebenda. Bd. 64. 1938. S. 1722. — 296a. Mosher, W., Saunders, D., Kingery, L., and Williams, R. J., Plant Physiol. Vol. 11. 1936. p. 795. — 297. Mueller, J. H., Journ. biol. Chem. Vol. 119. p. 121; Science [New York]. (N. S.) Vol. 85. 1937. p. 502. — 298. Ders., Journ. biol. Chem. Vol. 120. 1937. p. 219. — 299. Ders., Journ. Bact. Vol. 34. 1937. p. 163, 429. — 300. Ders., Journ. biol. Chem. Vol. 123. 1938. p. 421. — 301. Mueller, J. H., and Cohen, S., Journ. Bact. Vol. 34. 1937. p. 381. — 301a. Mulder, E. G., Over de beteekenis van koper voor de groei van planten en micro-organismen. Diss. Wageningen 1938; Annales Ferment. T. 4. 1938. p. 513. — 302. Müller, W., Ber. Schweiz. bot. Ges. Bd. 47. 1937. S. 277. — 303. Müller, W., et Schopfer, W. H., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 205. 1937. p. 687. — **304.** **N**arayanan, B. T., Biochemical Journ. Vol. 24. 1930. p. 6. — 305. Nicol, H., Plant growth substances. London 1938. — 306. Nielsen, N., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 82. 1930. S. 70. — 307. Ders., Jahrb. wiss. Bot. Bd. 73. 1930. S. 125. — 308. Ders., Biochem. Ztschr. Bd. 237. 1931. S. 244. — 309. Ders., Ebenda. Bd. 249. 1932. S. 196. — 310. Ders., Compt. Rend. Labor. Carlsberg. T. 19. No. 16. 1933. — 311. Ders., Ebenda. T. 20. No. 1. 1934. — 312. Ders., Compt. Rend. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 21. 1935. p. 151. — 313. Ders., Ebenda. T. 21. 1936. p. 185; Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 53. 1936. S. 49. — 314. Ders., Ebenda. T. 21. 1936. p. 427. — 315. Ders., Friesia, I. Vol. 5. 1936. p. 290. — 316. Ders., Arch. exp. Zellforsch. Bd. 19. 1937. S. 212. — 317. Ders., Arch. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 422. — 318. Ders., Protoplasma. Bd. 30. 1938. S. 130. — 319. Nielsen, N., et Hartelius, V., Compt. Rend. Labor. Carlsberg. T. 19. 1932. No. 8. — 320. Dies., Biochem. Ztschr. Bd. 256. 1932. S. 2. — 321. Dies., Compt. Rend. Labor. Carlsberg. T. 19. 1933. No. 15. — 322. Dies., Biochem. Ztschr. Bd. 259. 1933. S. 340. — 323. Dies., Ebenda. Bd. 276. 1935. S. 183. — 324. Dies., Nature [London]. Vol. 138. 1936. p. 203. — 325. Dies., Compt. Rend. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 22. 1937. p. 1. — 326. Dies., Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. 60. 1937. S. 109. — 327. Dies., Biochem. Ztschr. Bd. 295. S. 211; Bd. 296. 1938. S. 359; Compt. Rend. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 22. 1938. p. 249, 271. — 328. Dies., Biochem. Ztschr. Bd. 296. S. 171; Compt. Rend. Labor. Carlsberg, Sér. physiol. T. 22. 1938. p. 267. — 329. Nielsen, N., and Sing-Fang, F., Planta. Vol. 27. 1937. p. 367. — 330. Nikitinsky, J. H., Jahrb. wiss. Bot. Bd. 40. 1904. S. 1. — 331. Nilsson, R., Bjälfve, G. und Burström, D., Ann. landw. Hochsch. Schwedens. Bd. 5. S. 291; Naturwiss. Bd. 26. S. 284; Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 99. 1938. S. 332. — 332. Dies., Ann. landw. Hochsch. Schwedens. Bd. 6. S. 299; Naturwiss. Bd. 26. 1938. S. 661. — 332a. Dies., Ebenda. Bd. 26. 1938. S. 840. — 333. Noecker, N. L., Amer. Journ. Bot. Vol. 25. 1938. p. 345. — 334. Norris, E. R., Simeon, M. K., and Williams, H. B., Journ. Nutrit. Vol. 13. 1937. p. 425. — 335. Nowotelnow, N. W., and Wadowa, W. A., Proc. Sci. Inst. Vitamin Res. People Comm. Food Ind. URSS. Vol. 2. 1937. p. 81; ref.: Chem. Zentralbl. 1939 I. S. 709. — **336.** **O**hdake, S., Proc. Imp. Acad. Sci. Tokyo. Vol. 10. p. 95; Bull. agric. chem. Soc. Japan. Vol. 56. 1934. p. 166. — 337. Okunuki, K., Japanese Journ. of Bot. Vol. 5. 1931. p. 401. — 338. Oppenheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkungen. 5. Aufl. 4 Bde. Leipzig 1926—1929; Suppl. 2 Bde. Den Haag 1935—1938. — 339. Orla-Jensen, S., Nature [London]. Vol. 135. 1935. p. 915. — 340. Orla-Jensen, S., Otto, N. C. und Snog-Kjaer, A., Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 94. 1936. S. 434. — 341. Dies., Ebenda. Bd. 94. 1936. S. 447. — 342. Dies., Ebenda. Bd. 94. 1936. S. 452. — 343. Orr-Ewing, J., and Reader, V., Biochem. Journ. Vol. 22. 1928. p. 443. — 344. Osterberg, A. E., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 49. 1927. p. 538. — 345. Otani, Y., Journ. Fac. Agric. Hokkaido Imp. Univ. Vol. 39. 1936. p. 51. — 346. Otte, K., Die Wuchsstoffe im Leben der höheren Pflanze. Braunschweig 1937. — 346a. Overbeck, J. van, Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 22. 1936. p. 187. — **347.** **P**adwick, G. W., Scientific Agric. Vol. 16. 1936. p. 365. — 348. Palej, T. J., Microbiologija. Vol. 6. 1937. p. 616; ref.: Zentralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 367. — 349. Palladina, O. K., and Anoschkina, A. A., Microbiologija. Vol. 6. 1937. p. 787; ref.: Zentralbl.

f. Bakt. Abt. II. Bd. 98. 1938. S. 465. — 350. Pappenheimer jr., A. M., Biochemical Journ. Vol. 29. 1935. p. 2057. — 351. Pavcek, P. L., Peterson, W. H., and Elvehjem, C. A., Ind. Eng. Chem. Vol. 29. 1937. p. 536. — 351 a. Dies., Ebenda. Vol. 30. 1938. p. 802. — 352. Peters, R. A., Kinnersley, H. W., Orr-Ewing, J., and Reader, V., Biochem. Journ. Vol. 22. 1928. p. 445. — 353. Pett, L. B., Nature [London]. Vol. 135. 1935. p. 36. — 354. Ders., Biochem. Journ. Vol. 29. 1935. p. 937; Vol. 30. 1936. p. 1438. — 355. Philipson, T., Biochem. Ztschr. Bd. 258. 1933. S. 244. — 356. Pijoan, M., Journ. exp. Med. Vol. 53. 1931. p. 37. — 357. Popoff, M., Biol. Zentralbl. Bd. 53. 1933. S. 661. — 358. Pratt, R., Amer. Journ. Bot. Vol. 25. 1938. p. 498. — 358 a. Prosskurjakow, N. I., Popowa, Je. M., and Ossipow, F. M., Biochimija. Vol. 3. 1938. p. 397. — 359. Pruess, L. M., Peterson, W. H., Steenbock, H., and Fred, E. B., Journ. biol. Chem. Vol. 90. 1931. p. 369. — 360. Pulkki, I. H., Ann. Acad. Sci. fenn. Vol. 41. 1935. No. 1. — 361. Purr, A., Biochemical Journ. Vol. 29. 1935. p. 5, 13. — **361 a. R**affy, A., et Fontaine, M., Compt. Rend. Acad. Sci. Vol. 205. 1937. p. 1005. — 362. Rahn, O., and Hegarty, C. P., Proc. Soc. exp. Biol. Med. Vol. 38. 1938. p. 218. — 363. Rapkine, L., Journ. Chim. physique. Vol. 34. 1937. p. 416. — 364. Rasnizina, E. A., Compt. Rend. Acad. Sci. URSS. [N. S.] Vol. 18. 1938. p. 353. — 365. Raulin, J., Ann. des Sci. nat. Bot., Sér. V. Vol. 11. 1869. — 365 a. Reader, V., Biochemical Journ. Vol. 19. 1925. p. 1039. — 366. Dies., Ebenda. Vol. 22. 1928. p. 434. — 367. Reuter, L., Protoplasma. Vol. 25. 1936. p. 614. — 368. Richards, O. W., Journ. biol. Chem. Vol. 113. 1936. p. 531. — 369. Richardson, G. M., Biochemical Journ. Vol. 30. 1936. p. 2184. — 370. Rippel, K., Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 54. 1936. S. 487. — 371. Ders., Planta. Vol. 27. 1937. p. 381. — 372. Robbins, W. J., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 24. 1938. p. 53. — 373. Ders., Bull. Torrey bot. Club. Vol. 65. 1938. p. 267. — 374. Robbins, W. J., and Bartley, M. A., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 23. 1937. p. 385. — 375. Robbins, W. J., and Kavanagh, F., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 23. 1937. p. 499. — 376. Dies., Amer. Journ. of Bot. Vol. 25. 1938. p. 229. — 377. Dies., Plant Physiol. Vol. 13. 1938. p. 611. — 378. Dies., Bull. Torrey bot. Club. Vol. 65. 1938. p. 453. — 378 a. Roberg, M., Zentralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 74. 1928. S. 333. — 379. Robertson, R. C., Journ. infect. dis. Vol. 34. 1924. p. 395. — 380. Ders., Ebenda. Vol. 35. 1924. p. 311. — 381. Ronsdorf, L. v., Arch. Mikrobiol. Bd. 6. 1935. S. 309. — 382. Rosenthal, L., and Kamlet, J., Proc. Soc. exp. Biol. Med. Vol. 37. 1938. p. 650. — 383. Roth, H., Biochem. Ztschr. Bd. 297. 1938. S. 52. — 384. Rudolph, W., Naturwiss. Bd. 26. 1938. S. 155. — 385. Runström, J., and Sperber, E., Nature [London]. Vol. 141. 1938. p. 689. — **386. S**akamura, T., and Yanagihara, T., Proc. Imp. Acad. Sci. Tokyo. Vol. 8. 1932. p. 397. — 386 a. Sartory, A., Sartory, R., et Meyer, J., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 206. 1938. p. 1414. — 387. Sartory, A., Sartory, R., Meyer, J., et Meyden, M. J., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 203. 1936. p. 280. — 388. Saunders, F., Finkle, I. I., Sternfeld, L., and Koser, St. A., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 59. 1937. 170. — 388 a. Schade, A. L., Commun. Sci. Pract. Brewing. 1938. p. 36. — 389. Scheunert, A., und Reschke, J., Dtsch. med. Wochenschr. Bd. 57. 1931. S. 349. — 390. Scheunert, A. und Schieblich, M., Biochem. Ztschr. Bd. 139. 1923. S. 57. — 391. Dies., Chemie d. Zelle u. Gewebe. Bd. 13. 1926. S. 79. — 392. Dies., Liebigs Ann. Bd. 453. 1927. S. 249. — 393. Dies., Biochem. Ztschr. Bd. 212. 1929. S. 80. — 394. Dies., Ebenda. Bd. 286. 1936. S. 66. — 395. Dies., Biederm. Zentralbl. Agrikult. Chem. Abt. B. Bd. 8. 1936. S. 113. — 396. Dies., Ebenda. Bd. 9. 1937. S. 173. — 397. Scheunert, A., Schieblich, M. und Reschke, J., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 235. 1935. S. 91. — 398. Schieblich, M., Biochem. Ztschr. Bd. 207. 1929. S. 458. — 399. Ders., Ebenda. Bd. 220. 1930. S. 394. — 400. Ders., Ebenda. Bd. 225. 1930. S. 212. — 401. Ders., Ebenda. Bd. 233. 1931. S. 371. — 402. Ders., Ebenda. Bd. 259. 1933. S. 19. — 403. Schlenk, F., Tab. Biol. Bd. 14. 1937. S. 193. — 404. Schlenker, G., Die Wuchsstoffe der Pflanzen. München 1937. — 405. Schmidt, A. A. und Tuljtschinskaja, K., Biochem. Ztschr. Bd. 231. 1931. S. 352. — 406. Schopfer, W. H., Ber. Dtsch. bot. Ges. Bd. 52. 1934. S. 308. — 407. Ders., Ber. Schweiz. bot. Ges. Bd. 43. 1934. S. 141. — 408. Ders., Ebenda. Bd. 43. 1934. S. 389. — 409. Ders., Arch. Mikrobiol. Bd. 5. 1934. S. 502. — 410. Ders., Ebenda. Bd. 5. 1934. S. 511. — 411. Ders., Compt. Rend. Soc. Phys. et Hist. Nat. Genève. T. 52. 1935. p. 113. — 412. Ders., Ztschr. f. Vitamin-

forsch. Bd. 4. 1935. S. 67. — 413. Ders., Ebenda. Bd. 4. 1935. S. 187. — 414. Ders., Arch. Mikrobiol. Bd. 6. 1935. S. 139. — 415. Ders., Ebenda. Bd. 6. 1935. S. 510. — 416. Ders., Protoplasma. Bd. 27. 1936. S. 131. — 417. Ders., Ber. Dtsch. bot. Ges. Bd. 54. 1936. S. 559. — 418. Ders., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 203. 1936. p. 201. — 419. Ders., Ebenda. T. 205. 1937. p. 445. — 420. Ders., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 126. 1937. p. 842. — 421. Ders., Ber. Schweiz. bot. Ges. Bd. 47. 1937. S. 460. — 422. Ders., Protoplasma. Bd. 28. 1937. S. 381. — 423. Ders., Ber. Dtsch. bot. Ges. Bd. 55. 1937. S. 572. — 424. Ders., Arch. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 230. — 425. Ders., Ebenda. Bd. 9. 1938. S. 116. — 426. Schopfer, W. H. und Blumer, S., Arch. Mikrobiol. Bd. 9. 1938. S. 305. — 427. Dies., Compt. Rend. Acad. Sci. Bd. 206. 1938. S. 1141. — 428. Schopfer, W. H., et Jung, A., Arch. Mikrobiol. Bd. 6. 1935. S. 334. — 429. Dies., Ebenda. Bd. 6. 1935. S. 345. — 430. Dies., Ebenda. Bd. 7. 1936. S. 571. — 431. Dies., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 204. 1937. p. 1500. — 432. Dies., Congr. int. techn. chim. Ind. agric. Scheveningue C. R. Vol. 5 I. 1937. p. 22. — 433. Schopfer, W. H., et Moser, W., Protoplasma. T. 26. 1936. S. 538. — 434. Schopfer, W. H., et Rytz jr., W., Arch. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 244. — 435. Schopmeyer, H., Iowa State Coll. Journ. Sci. Vol. 6. 1932. p. 471. — 436. Schopmeyer, H., and Fulmer, E. I., Journ. of Bact. Vol. 22. 1931. p. 23. — 437. Schübel, K. und Gehlen, W., Arch. exp. Pathol. Pharmakol. Bd. 166. 1932. S. 348. — 438. Schülein, J., Die Bierhefe als Nähr-, Heil- und Futtermittel. Dresden u. Leipzig 1938. — 439. Schultz, A. S., Atkin, L., and Frey, Ch. N., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 59. 1937. p. 948, 2457. — 440. Dies., Ebenda. Vol. 60. 1938. p. 490. — 441. Dies., Ebenda. Vol. 60. 1938. p. 1514. — 441 a. Dies., Ebenda. Vol. 60. 1938. p. 3084; Science [New York]. Vol. 88. 1938. p. 547. — 442. Schultz, F. und Laquer, F., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 219. 1933. S. 158. — 443. Schulz, G., Planta. Vol. 27. 1937. p. 196. — 444. Scott, W. M., System of Bact. II. 326. London 1929. — 445. Seidell, A., Rec. Trav. chim. Pays-Bas. Vol. 48. 1929. p. 855. — 446. Sims, H. des B., Trans. Roy. Soc. Canada, Sect. III. Vol. 18 (3). 1924. p. 116. — 447. Sinclair, H. M., Nature [London]. Vol. 140. 1937. p. 361. — 447 a. Ders., Biochem. Journ. Vol. 32. 1938. p. 2185. — 448. Skinner, C. E., and Gunderson, M. F., Journ. biol. Chem. Vol. 97. 1932. p. 53. — 449. Snell, E. E., and Strong, F. M., Journ. biol. Chem. Vol. 123. Scient. Proc. XXXII, p. CXII. 1938. — 449 a. Snell, E. E., Strong, F. M., and Peterson, W. H., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 60. 1938. p. 2825. — 450. Snell, E. E., Tatum, E. L., and Peterson, W. H., Journ. of Bact. Vol. 33. 1937. p. 207. — 451. Snyder, Th. L., and Broh-Kahn, R. H., Nature [London]. Vol. 142. 1938. p. 153. — 452. Sparling, E. M., Trans. Roy. Soc. Canada, Sect. III. Vol. 22 (3). 1928. p. 271. — 453. Ssuchorukow, K., et Epel-Boglowss, T., Compt. Rend. Acad. Sci. URSS. 1935, I. p. 636. — 454. Ssuchorukow, K., Kling, J., et Kljatschko, D., Compt. Rend. Acad. Sci. URSS. 1935, I. p. 524. — 455. Stantial, H., Trans. Roy. Soc. Canada, Sect. III. Vol. 26 (3). 1932. p. 163. — 455 a. Steinberg, R. A., Journ. agric. Res. Vol. 51. 1935. p. 413; Vol. 52. 1936. p. 439; Amer. Journ. Bot. Vol. 23. 1936. p. 227. — 455 b. Ders., Journ. agric. Res. Vol. 57. 1938. p. 461. — 455 c. Ders., Ebenda. Vol. 57. 1938. p. 569. — 456. Stepp, W., Kühnau, J. und Schroeder, H., Die Vitamine und ihre klinische Anwendung. Stuttgart 1936. — 457. Stepp, W. und Schroeder, H., Ztschr. exp. Med. Bd. 98. 1936. S. 611. — 458. Stern, K. G., and Hofer, J. W., Science [New York]. (N. S.) Vol. 85. p. 483; Enzymologia. Vol. 3. 1937. p. 82. — 459. Straub, F. B., Nature [London]. Vol. 141. 1938. p. 603. — 460. Sumi, M., Sci. Pap. Inst. physic. chem. Res. Vol. 20. 1933. p. 254. — 461. Sunderlin, G., and Werkman, C. H., Journ. of Bacteriol. Vol. 16. 1928. p. 17. — 462. Suzuki, B., and Hamamura, Y., Proc. Imp. Acad. Sci. Tokyo. Vol. 3. 1927. p. 521. — 463. Dies., Ebenda. Vol. 4. 1928. p. 158. — 464. Suzuki, B., Matsusita, K., and Aoki, K., Proc. Imp. Acad. Sci. Tokyo. Vol. 6. 1930. p. 334. — 465. Swoboda, F. K., Journ. biol. Chem. Vol. 52. 1922. p. 91. — 466. Szent-Györgyi, A., Nature [London]. Vol. 131. 1933. p. 225. — 467. Szent-Györgyi, A., and Haworth, W. N., Nature [London]. Vol. 131. 1933. p. 24. — 468. Takahashi, E., and Lim, H., Bull. agric. chem. Soc. Japan. Vol. 5. 1929. p. 24. — 469. Takata, R., Journ. Soc. chem. Ind. Japan. Suppl. Vol. 32. 1930. p. 188 B. — 470. Ders., Ebenda. Vol. 32. 1930. p. 268 B. — 471. Ders., Ebenda. Vol. 32. 1930. p. 269 B. — 471 a. Tamiya, H., Acta phytochim. Vol. 4. 1928. p. 215. — 472. Tamiya, H., and Ogura, Y., Acta phytochim. Vol. 9. 1937. p. 123. —

472a. Tamiya, H., and Yamagutchi, S., Acta Phytochim. Vol. 7. 1933. p. 233. — 473. Tanner, F., Chem. Rev. Vol. 1. 1925. p. 397. — 474. Tatum, E. L., Peterson, W. H., and Fred, E. B., Journ. of Bact. Vol. 32. 1936. p. 157. — 475. Tatum, E. L., Wood, H. G., and Peterson, W. H., Journ. of Bact. Vol. 32. 1936. p. 167. — 476. Dies., Biochemical Journ. Vol. 30. 1936. p. 1898. — 477. Tauber, H., Enzymologia. Bd. 1. 1936. S. 209. — 478. Ders., Science [New York]. (N. S.) Vol. 86. 1937. p. 180. — 479. Ders., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 60. 1938. p. 730. — 480. Ders., Ergebn. d. Enzymforsch. Bd. 7. 1938. p. 301. — 480a. Tchang, J. L., et Chaix, P., Bull. Soc. Chim. biol. T. 20. 1938. p. 1175. — 481. Teindl-Czech, L., Protoplasma. Bd. 27. 1937. S. 313. — 482. Theorell, H., Ergebn. d. Enzymforsch. Bd. 6. 1937. S. 111. — 483. Thimann, K. V., Journ. biol. Chem. Vol. 109. 1935. p. 279. — 484. Thimann, K. V., and Dolk, H. E., Biol. Zentralbl. Bd. 53. 1933. S. 49. — 485. Thimann, K. V., and Sweeney, B. M., Nature [London]. Vol. 140. 1937. p. 807. — 486. Thjötta, T., and Avery, O., Journ. exp. Med. Vol. 33. p. 763; Vol. 34. 1921. p. 97, 455. — 487. Thorne, R. S., and Bishop, L. R., Journ. of the Inst. of Brewing. No. 1. 1936. — 488. Tkatschenko, E. S., Biochimija. Vol. 1. 1936. p. 579; ref.: Chem. Zentralbl. 1937. I. S. 3667. — 489. Tochinai, Y., and Terui, M., Journ. Fac. Agric., Hokkaido Imp. Univ. Vol. 32. 1932. p. 71. — 490. Toeuf, G. de, Journ. Chim. physique. Vol. 34. 1937. p. 740. — 491. Török, G., Klin. Wochenschr. 1935. I. S. 673, 919; 1935. II. S. 1509. — 492. Tschesche, R., Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 66. 1933. S. 581. — **492a. Urban**, F., Journ. biol. Chem. Vol. 109. 1935. p. XCIII. — **493. Virtanen**, A. I., and Hausen, S. v., Nature [London]. Vol. 133. p. 383; Acta chem. fenn. 7. No. 1. Suppl. Vol. 75. 1934. — **494. Wagner-Jauregg**, Th., Angew. Chem. Bd. 47. 1934. S. 315. — 494a. Waksman, S. G., and Foster, J. W., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 207. 1938. p. 483. — 495. Warburg, O. und Christian, W., Biochem. Ztschr. Bd. 254. 1932. S. 438; Bd. 257. 1933. S. 492; Bd. 266. 1933. S. 377. — 496. Dies., Ebenda. Bd. 275. 1935. S. 464; Bd. 282. 1935. S. 157; Bd. 285. 1936. S. 156; Bd. 287. 1936. S. 291. — 496a. Dies., Ebenda. Bd. 295. 1938. S. 261; Bd. 296. 1938. S. 294; Bd. 298. 1938. S. 150. — 497. Wassink, E. C., Réc. trav. bot. Néerl. T. 31. 1934. — 498. Weber, A. Ph., Compt. Rend. Acad. Sci. T. 202. 1936. p. 517.; Ann. Fermentat. T. 3. 1937. p. 15, 65. — 499. Weichardt, W., Dtsch. med. Wochenschr. Bd. 53. 1927. S. 1545. — 499a. Ders., im Handb. d. pathog. Mikroorg. 3. Aufl. Bd. I. Jena, Berlin u. Wien 1929. — 500. Weij, H. G. van der, Proc. Kon. Acad. Wet. Amsterdam. Vol. 36. 1933. p. 759; Pubbl. Staz. Zoologica di Napoli. Vol. 31. 1933. p. 172. — 501. Went, F. W., and Thimann, K. V., Phytohormones. New York 1937. — 502. Werner, A. R., Compt. Rend. Acad. Sci. URSS. T. 4. p. 61; Rev. Appl. Myc. T. XV. 1935. p. 309. — 503. West, P. M., and Wilson, P. W., Nature [London]. Vol. 142. 1938. p. 397; Science [New York]. Vol. 88. 1938. p. 334. — 504. White, Ph. R., Plant Physiol. Vol. 12. 1937. p. 777. — 505. Wichko-Filatowa, K. D., Probl. Endocrin. 1936. p. 17; ref.: Chem. Zentralbl. 1928. I. p. 349. — 506. Wildiers, E., La Cellule. Vol. 18. 1901. p. 311. — 507. Williams, R. J., Lyman, C. M., Goodyear, G. H., and Truesdail, J. H., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 54. 1932. p. 3462. — 508. Williams, R. J., Lyman, C. M., Goodyear, G. H., Truesdail, J. H., and Holaday, D., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 55. 1933. p. 2912. — 509. Williams, R. J., Mac Alister, E. D., and Roehm, R. R., Journ. biol. Chem. Vol. 83. 1929. p. 315. — 510. Williams, R. J., and Moser, R., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 56. 1933. p. 169. — 511. Williams, R. J., Mosher, W. A., and Rohrmann, E., Biochemical Journ. Vol. 30. 1936. p. 2036. — 512. Williams, R. J., and Roehm, R. R., Journ. biol. Chem. Vol. 87. 1930. p. 581. — 513. Williams, R. J., and Rohrmann, E., Plant Physiol. Vol. 10. 1935. p. 559. — 514. Dies., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 58. 1936. p. 695. — 515. Williams, R. J., and Saunders, D. H., Biochemical Journ. Vol. 28. 1934. p. 1887. — 516. Williams, R. J., and Truesdail, J. H., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 53. 1931. p. 4171. — 517. Williams, R. J., Truesdail, J. H., Weinstock jr., H. H., Rohrmann, E., Lyman, C. M., and McBurney, Ch. H., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 60. 1938. p. 2719. — 517a. Williams, R. J., Weinstock, jr. H. H., Rohrmann, E., Truesdail, J. H., Mitchel, K., and Meyer, C. E., Ebenda. Vol. 61. 1939. p. 454. — 518. Williams, R. J., Wilson, J. L., and Ahe, F. H. von der, Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 49. 1927. p. 227. — 519. Williams, R. R., Journ. Amer. chem. Soc. Vol. 58. 1936. p. 1063. — 520. Ders., Journ. Amer. med. Assoc. Vol. 109. 1937. p. 952. —

521. Ders., Ergebn. d. Vitamin- u. Hormonforsch. Bd. 1. 1938. S. 213. — 522. Willstaedt, H., Ber. Dtsch. chem. Ges. Bd. 68. 1933. S. 333. — 523. Ders., Carotinoide, Bakterien- und Pilzfarbstoffe. Stuttgart 1934. — 524. Windaus, A. und Großkopf, W., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 124. 1922. S. 8. — 525. Windisch, S., Arch. Mikrobiol. Bd. 8. 1937. S. 321. — 526. Womack, M., Kemmerer, K. S., and Rose, W. C., Journ. biol. Chem. Vol. 121. 1937. p. 403. — 527. Wood, H. G., Anderson, A. A., and Werkman, C. H., Proc. Soc. exp. Biol. Med. Vol. 36. 1937. p. 217. — 528. Wood, H. G., Tatum, E. L., and Peterson, W. H., Journ. of Bact. Vol. 33. 1937. p. 227. — 529. Woods, D. D., Biochem. Journ. Vol. 29. 1935. p. 640. — 530. Yakushiji, E., and Mori, T., Acta phytochim. Vol. 10. 1937. p. 113. — 531. Yamasaki, I. und Yositome, W., Biochem. Ztschr. Bd. 297. 1938. S. 398. — 531a. Yin, H. C., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 23. 1937. p. 174. — 532. Zajdeł, R., et Funk, C., Compt. Rend. Soc. Biol. T. 92. 1925. p. 1527. — 533. Zechmeister, L., Carotinoide. Berlin 1936. — 534. Zeile, K. und Reuter, F., Ztschr. physiol. Chem. Bd. 221. 1933. p. 101. — 535. Zironi, A., Boll. Sez. ital. Soc. int. Microbiol. Vol. 10. 1938. p. 159.

Referate.

Bücher, Institutsberichte usw.

Appel, O., Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 6. Bd.: Pflanzenschutz (Verhütung und Bekämpfung der Pflanzenkrankheiten). 3. Lieferung (S. 577—647 und Titelbogen zum I. Halbband, S. 1—208 vom II. Halbband). Berlin (Paul Parey) 1939. Preis 17.80 RM.

Die vorliegende Lieferung bringt den Abschluß der physikalischen und chemischen Prüfverfahren von Pflanzenschutzmitteln, womit auch zugleich der I. Halbband des 6. Bandes abgeschlossen wird. Das von Hilgendorff und Fischer behandelte Kapitel befaßte sich im 1. Teil mit der Darstellung der physikalischen Prüfverfahren für Spritz- und Stäubemittel. Der 2. Teil greift in seiner Bedeutung weit über den Rahmen des Pflanzenschutzes hinaus. Die Methoden des Nachweises chemischer Verbindungen bzw. ihrer Bestandteile, die der Herstellung von Pflanzenschutzmitteln dienen, sind hier in sorgfältigster Kleinarbeit zusammengestellt worden. Nicht nur der Chemiker der Pflanzenschutzmittel-Industrie wird diesen Abschnitt immer wieder zu Rate ziehen, wenn er auch ihm in erster Linie zugutekommen wird, sondern auch andere Disziplinen der Chemie werden den Wert gerade dieser Darstellung zu schätzen verstehen. Man muß es dem Herausgeber wie den Verff. gleicherweise Dank wissen, daß sie die Bearbeitung dieses Abschnittes veranlaßt bzw. durchgeführt haben. Der von H. Sachtleben bearbeitete Abschnitt behandelt das so strittige Problem der biologischen Bekämpfung, die als „Verwendung von Lebewesen zur aktiven Verminderung oder Vertilgung schädlicher Tiere oder Pflanzen“ charakterisiert wird. Es werden in getrennten Kapiteln die Verwendung von Mikroorganismen, von Wirbeltieren, von Insekten zur Bekämpfung von Schadinsekten und zur Unkrautbekämpfung behandelt. Dieses so umfangreiche, vielseitige und wichtige Gebiet ist im Rahmen dieses Handbuches erstmalig zur Darstellung gebracht worden. Die Berücksichtigung der Literatur ist so weitgehend erfolgt, daß diese Angaben es jedem ermöglichen, sich speziell dem Studium der Fragen zu widmen, die im Rahmen dieser Darstellung nur gestreift werden konnten. Mit diesem Beitrag schließt der Abschnitt über die Aufgaben des Pflanzenschutzes. Das nachfolgende Kapitel, den technischen Mitteln des Pflanzen-

schutzes gewidmet, darf in der vorliegenden Form die Aufmerksamkeit des Lesers für sich beanspruchen. Es ist gerade über dieses Gebiet bisher viel geschrieben worden, aber der stete Wandel, der insbesondere auf technischem Gebiet festzustellen ist, läßt das Bedürfnis nach einer zeitgemäßen Darstellung nicht minder berechtigt erscheinen. Die Fortschritte der Technik wie die neueren Ergebnisse der wissenschaftlichen Erforschung dieses Gebietes sind dabei in gleicher Weise zur Geltung gelangt und dürften in glücklicher Synthese dem Wissenschaftler wie dem Praktiker gleich wertvoll sein. Behandelt werden die Naßbeizgeräte (Riehm), die Trockenbeizgeräte (Winkelmann) und die Spritzgeräte (Zillig), wobei eine reichhaltige Illustrierung sehr zur Veranschaulichung beiträgt. *M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).*

Allgemeines und Methodisches.

Hoffmann, E., Einfache Dauerfärbung von Hautpilzen und Mikroorganismen mit Azureosinglyzerin. (Klin. Wochenschr. Jahrg. 17. 1938. S. 1622—1623.)

Die beschriebene sehr einfache Dauerfärbung beruht auf der Fähigkeit keit der Azureosinlösung (nach Giemsa), Mikroorganismen schnell und kontrastreich gegen die Umgebung zu färben sowie auf der Eigenschaft des Glyzerins (das mit Giemsa-Lösung beliebig mischbar ist), das Präparat aufzuhellen und die Färbung haltbar zu machen. Das Präparat wird — ohne Fixierung (dadurch keine Schrumpfung) — einfach mit einem Tropfen Farblösung versetzt und hierauf mit einem Deckglas bedeckt. Als Farblösung (beziehbar von Dr. Grübler & Co., Leipzig) dient Giemsa-Farblösung, gemischt mit 2—10 Teilen Glyzerin (in dunkler Flasche bei gutem Verschluß längere Zeit ohne Filtrieren verwendbar); der Azureosinfarbstoff kann aber auch in reinem Glyzerin (bei Erwärmen im Wasserbad) gelöst werden.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Loichinger, E., Über die Verwendung von Kieselsäurenährböden als Ersatz für Agar und Gelatine im Brauereilaboratorium. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. 56. 1939. S. 36—37.)

Angeregt durch eine Arbeit von Hettche und Munch über die Verwendung von Kieselsäurenährböden bei der bakteriologischen Untersuchung von Wasser und Abwasser hat Verf. deren Eignung für das Brauereilaboratorium geprüft, in dem bekanntlich feste Nährböden mit Agar und Gelatine vielseitige Verwendung finden. Das handelsübliche Wasserglas wird mit Phosphorsäure bis zu einem p_H von 6,7—7,0 neutralisiert, deren Menge in einem Vorversuch ermittelt wird. Verf. gibt zu 1 l blanker, 12proz. gehopfter Würze je nach dem Ergebnis des Vorversuches etwa 30 ccm 25proz. Phosphorsäure (Merck) unter guter Vermischung. Dann füllt man Reagenzgläser oder Freudenreich-Kölbchen mit je 10 ccm dieser Lösung, verschließt sie mit Watte und sterilisiert im Dampftopf. Vor dem Gießen der Platten gibt man 0,5 ccm steriles Wasserglas in das Reagenzröhrchen mit der phosphorsauren Würze und schüttelt gut durch. Die gegossene Platte ist nach etwa 20 Min. erstarrt. Alle zum Gießen verwendeten Geräte werden sofort mit Wasser gereinigt, da das hartwerdende Wasserglas später nur schwer zu entfernen ist. Bei Keimzahlbestimmungen liegt das p_H des Nährbodens zweckmäßig in der Nähe von 7,0. Vergleichsversuche haben gezeigt, daß die Keimzahlen von infiziertem Wasser, Würze, Luft usw. für Wasserglas, Agar und Gelatine praktisch gleich sind. Bei Verwendung von Kieselsäurenährböden ist ein Auflösen und Filtrieren nicht notwendig, eine Schädigung der Organismen durch hohe Temperaturen beim Gießen tritt nicht ein, die sekundäre Infektion durch Einziehen von Luft in die Platten beim Abkühlen wird vermieden, auch eine Verflüssigung des Nährbodens durch Schimmelpilze und Bakterien findet nicht statt. Der Nährboden ist gut gepuffert, das Geliermittel ist billig und arbeitssparend, der Nährboden ist frei von Trübungen.

Heuß (Berlin).

Knöll, H., Ein Beitrag zur Prüfung von Bakterienfiltern. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 121. 1938. S. 298—311.)

Eine unbedingte Gewähr für keimfreie Filtration geben nur Filter, die vor Gebrauch auf ihre Durchlässigkeit geprüft worden sind. Diese Prüfung ist möglich bei Hartfiltern aus Ton, Kieselgur und Glas, nicht dagegen bei Asbestfiltern. Weitere Nachteile der Asbestfilter bestehen darin, daß sie alkalische Stoffe an das Filtrat abgeben, daß Flimmerteilchen ins Filtrat gelangen und daß sich der geringe Eisengehalt der Filterscheiben störend auswirken kann.

Untersuchungen über das von Bechhold angegebene Blasendruckverfahren zur Bestimmung der Filterporenweite ergaben, daß damit keine realen Durchmesserwerte erhalten werden. Die Werte hängen weitgehend von der Geschwindigkeit des Druckanstieges ab. Es besteht also lediglich die Möglichkeit, durch Messungen mit demselben Druckanstieg Vergleichswerte zu erhalten (Standardmeßmethode, die näher beschrieben wird).

Der Ausfall des Filtrationsergebnisses hängt von einer bestimmten Porenweite an aufwärts wesentlich von dem Keimgehalt der Prüfsuspension ab, d. h. weitporige Filter können wohl bei Filtrationen von relativ keimarmen Bakterien-Suspensionen ein steriles Filtrat ergeben, sie versagen jedoch bei dichten Suspensionen.

Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).

Neufeld, F. und Schiemann, O., Über die Wirkung des Alkohols bei der Händedesinfektion. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 121. 1938. S. 312—333.)

Die Wirkung des Alkohols bei der Händedesinfektion wird in der Literatur auf 3 Faktoren zurückgeführt: auf seine reinigende, keimfixierende und bakterizide Kraft, wobei letzterer die geringste Bedeutung beigemessen wird. Verff. kommen zu dem entgegengesetzten Ergebnis. Hiernach übt der Alkohol auf die an der Hand befindlichen Keime, soweit er sie nicht abtötet, keinerlei besondere Wirkung aus: weder fixiert er sie auf der Haut, noch löst er sie in höherem Maße ab als einfache Waschungen mit Wasser und Seife. Von besonderer Wichtigkeit ist, daß er trockene Bakterien ebensowenig beeinflußt wie Sporen; soll er bakterizid wirken, so müssen entweder die Bakterien feucht sein und sich in einer feuchten Umgebung befinden oder der Alkohol muß mit Wasser verdünnt sein. Schon sehr dünne und kaum eiweißhaltige Schichten schützen nach ganz kurzem Trocknen an der Haut die in ihnen befindlichen Bakterien vor der Wirkung des 96proz. Alkohols. Hochprozentiger Alkohol sollte also niemals ohne vorherige Anfeuchtung der Hände angewandt werden. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Morphologie, Physiologie und Systematik der Mikroorganismen; Virusuntersuchungen.

Tracy, R. L., Comparative metabolism of the R and S variants of Lactobacillus plantarum (Orla-Jensen). (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 467—479.)

Daß die oft beobachtete Veränderlichkeit biochemischer Eigenschaften eines Bakteriums mit Veränderungen in der Kolonieform einhergehen können, ließ sich am Beispiel des Lactobacillus plantarum besonders deutlich zeigen. Die S-Form geht bei Kultivierung auf Glukose-Agar mit 4% NaCl in die R-Form über. Damit verbunden ist der Verlust saccharolytischer Eigenschaften des Bakteriums und eine gesteigerte Affinität zu stickstoffhaltigen Nährstoffen. Denn während die S-Form aus Arabinose, Glukose, Laktose und Raffinose Säure bildet, ist die R-Form hierzu nicht fähig. Sie vermag dagegen in kohlehydratfreier Pepton- und Kaseinlösung zu wachsen, wozu die S-Form nicht imstande ist. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Ball, E., Heteroauxin and the growth of Escherichia coli. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 559—565.)

Die Möglichkeit, daß Heteroauxin, welches von vielen Bakterien gebildet wird, für diese selbst ein Wachstums- und Vermehrungsstimulans darstellt, wurde an Bact. coli untersucht. Zählungen in synthetischer Nährlösung mit Zusätzen von 1—10 Teilen des Hormons auf 10 Millionen Teile Lösung ergaben, daß die Zellvermehrung mit Hormon doppelt so groß ist wie in der Kontrolle. Sämtliche verschiedenen Konzentrationen der Indolessigsäure hatten die gleiche Wirkung. Entstehung und Wirkung des Heteroauxins werden in Anlehnung an die Theorie Södings über die Wirkung und Wanderung des Wuchsstoffes im Kambium höherer Pflanzen als eine Art autokatalytischen Vorganges aufgefaßt. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Gróh, E. und Koloman Mégay, Über die Stabilität des Entwicklungsganges bei Diphtheriebazillen. I. Die Entwicklungsform bei Züchtung auf tierischen Schleimhäuten. (Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 121. 1938. S. 376—379.)

Die Nachprüfung der von Levinthal gemachten Angaben, nach denen Züchtung der virulenten typischen Diphtheriebakterien auf tierischer Schleimhaut zu einer Umwandlung in avirulente Pseudodiphtheriebakterien führt, hatte ein negatives Ergebnis. *Rodenkirchen (Königsberg i. Pr.).*

Curran, H. R., and Evans, Fr. R., Sensitizing bacterial spores to heat by exposing them to ultraviolett light. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 455—465.)

Nach Bestrahlung mit ultraviolettem Licht sind Proteine hitzeempfindlicher als vorher. Dementsprechend sind auch viele der nach U-V-Bestrahlung überlebenden Bakteriensporen nicht nur gegenüber erneuter Bestrahlung, sondern auch gegenüber Erhitzung besonders empfindlich. Größer ist die Hitzeempfindlichkeit allerdings bei den Überlebenden nach Anwendung tödlicher Temperaturen als nach Vorbehandlung mit U-V-Licht, wie auch die durch Bestrahlung nicht abgetöteten Sporen eine größere Zunahme ihrer Lichtempfindlichkeit als ihrer Hitzeempfindlichkeit zeigen. Der umgekehrte Weg einer Sensibilisierung der Sporen gegenüber U-V-Licht durch Hitze ist nicht gangbar. Die Sporen werden durch Bestrahlung mit dem Anteil der Schumann-Region hitzeempfindlicher als mit dem quarzdurchdringenden Anteil. Die gegen Hitze und Licht zunächst widerstandsfähigsten Sporen sind darnach am stärksten geschwächt. Bei kombinierter Anwendung beider Faktoren hat die Folge Licht—Hitze die größte zerstörende Wirkung. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Wood, H. G., Andersen, A. A., and Werkman, C. H., Nutrition of the propionic acid bacteria. (Journ. Bact. Vol. 36. 1938. p. 201—214.)

Wood hat schon früher mit einigen anderen Mitarbeitern Untersuchungen über die Ernährungsansprüche der Proprionsäurebakterien durchgeführt. In Fortsetzung dieser Arbeiten wurde nunmehr festgestellt, daß Aminosäuren die Entwicklung der Bakterien zwar fördern, jedoch hierfür nicht unbedingt notwendig sind. Einige Stämme gedeihen ohne Aminosäuren nur schlecht, andere dagegen gut. Ähnliches gilt für Riboflavin und Vitamin B_1 in Nährmedien mit Ammoniumsulfat. Manche Stämme können offenbar

an B_1-freie Substrate allmählich so gewöhnt werden, daß sie auch hierin üppig gedeihen. Dagegen ist der bei den früheren Untersuchungen schon verwendete ätherische Auszug aus Hefeextrakt unentbehrlich. Es scheint, als seien die Ernährungsansprüche der Propionsäurebakterien in synthetischen Nährmedien veränderlich und davon abhängig, ob die Kulturen zur Zeit der Untersuchung imstande sind, gewisse lebensnotwendige organische Wirkstoffe selbst zu synthetisieren. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Bjørnekaer, K., Undersøgelser over nogle danske Poresvampes Biologie med saerligt Hensyn til deres Sporefaeldning. [Untersuchungen über die Biologie einiger dänischer Porlinge, insbesondere hinsichtlich des Sporenfalls.] (Friesia. Bd. 2. 1938. S. 1—41.) [Dän. m. ausführl. engl. Zusfassg.]

Zur Ermittlung der Dauer der Sporenproduktionsperiode einiger Polyporaceen benutzte Verf. folgendes einfache Verfahren. Eine Flaschenverschlußkapsel, in die ein Papierblättchen eingelegt war, wurde mittels eines angelöteten Blechstreifens so befestigt, daß sie der Unterseite des Fruchtkörpers anlag. Die abfallenden Sporen häuften sich dann auf dem Papierblättchen, das regelmäßig ausgewechselt wurde, an.

Die Pilze lassen sich nach ihrer Sporenproduktion in folgende Gruppen einteilen: 1. Sporenfall im Sommerhalbjahr, April bis Oktober: Daedalea quercina, Polyporus applanatus, P. cupreo-laccatus und P. fomentarius. Die letztgenannte Art stellt allerdings die Sporenproduktion während der heißen Monate Juli/August, teilweise oder ganz ein. 2. Sporenfall im Winterhalbjahr, Oktober bis März: P. fuliginosus und P. adustus. 3. Sporenfall während des ganzen Jahres mit Ausnahme der Monate Februar und März: P. odoratus und Daedalea gibbosa. 4. Sporenfall während des ganzen Jahres, nur unterbrochen durch strenge Frostperioden: P. annosus. Das Sporenpulver von P. applanatus und P. cupreo-laccatus ist dunkelbraun, von P. fomentarius weiß. Die Sporengröße variiert mit der Jahreszeit. So beträgt beispielsweise die durchschnittliche Sporenlänge von P. fomentarius im Frühjahr etwa 21 μ, im Herbst nur 15 μ. Im Fruchtkörper dieses Pilzes werden, den Sporenproduktionsperioden entsprechend, jährlich zwei Röhrenschichten (Frühjahr und Herbst) gebildet. Nur selten findet man Fruchtkörper, die älter als 10 Jahre sind. Die Farbe der Röhrenschicht, über die genaue Beobachtungen mitgeteilt werden, ist einer regelmäßigen Änderung während des Jahres unterworfen. Zum Schluß wird noch der Wirtspflanzenbereich (11 Arten) von P. fomentarius aufgeführt. Ferner wurden gefunden: P. cupreo-laccatus an Quercus robur, P. fuliginosus an Fagus silvatica und P. sulphureus an Alnus glutinosa. *H. Richter (Berlin-Dahlem).*

Mikrobiologie der Nahrungs-, Genuß- und Futtermittel.

Schwartz, W., Die Arbeitsweise in der englischen Hochseefischerei. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 684—691.)

Vergleich der deutschen und der englischen Arbeitsweise bei der Behandlung der Fische auf dem Fischdampfer, bei der Auktion und beim Transport in das Binnenland. An Bord erfolgen das Spülen und Einlagern hoch-

wertiger Fische sorgfältiger als bei uns. Beim Bahntransport fallen die sorgfältige Verpackung der Fische und die ausschließliche Verwendung von Kühlwagen für den Transport über größere Strecken auf. — Verbesserung der Seefischqualität im Binnenland wird nur zu erreichen sein, wenn entsprechende Maßnahmen bereits auf dem Fischdampfer einsetzen (z. B. hygienisch einwandfreie Durchführung des Schlachtens der Fische). *Autorreferat.*

Seelemann, M. und Sieg, G., Zur Frage der Hitzewiderstandsfähigkeit der Bruzella abortus (des Abortus Bang-Bakteriums) und ihre Bedeutung für die Pasteurisierung der Milch. (Molkerei-Zeit. Bd. 52. 1938. S. 3047—3050.)

Verff. konnten eine bisher von Bang-Bakterien nicht erwartete Resistenz gegenüber Hitze grundsätzlich feststellen. Zu den Versuchen wurden Sammlungsstämme, frisch isolierte Stämme und solche nach Tierpassagen herangezogen und auf Hitzeresistenz untersucht, und zwar in sterilisierter Milch, roher Vollmilch und physiologischer Kochsalzlösung. Auch natürlich infizierte Milch wurde in die Versuche einbezogen. Je 1 ccm der Proben wurde in kleinen Ampullen im Schüttelthermostat auf 62° erhitzt und im Wasserbad sofort wieder gekühlt. Der Nachweis von überlebenden Abortus-Bakterien erfolgte auf Stafseth-Agar und in Lackmusmilch. Sie waren selbst nach 50 Min. langem Erhitzen auf 62° in den künstlich infizierten Milchproben nachzuweisen, was Verff. auf die große Zahl der vorhandenen Bang-Bakterien zurückzuführen glaubten. Die 6 natürlich infizierten Milchproben waren hingegen schon nach 1 Min. abortus-frei. In der physiologischen Kochsalzlösung konnten schon nach 1—1½ Min. keine Bang-Bakterien mehr gefunden werden. Dem Nachweis auf Stafseth-Agar gegenüber fiel der Nachweis mit Hilfe von Meerschweinchen in allen Versuchsreihen schon nach 4 Min. negativ aus. Demnach ist bei der sog. Erhitzerprüfung, wenn mit künstlich infizierter Milch gearbeitet wird, unter Umständen auch bei einwandfrei arbeitenden Erhitzern mit positiven Ergebnissen zu rechnen! Ist umgekehrt das Abtötungsergebnis bei künstlich infizierter Milch ein befriedigendes (auch bezüglich Tuberkelbakterien), dann dürfte der Apparat den hygienischen Anforderungen entsprechen. *Janoschek (Weihenstephan).*

Boysen, H. H., Über einige Fehlerursachen bei der Trinkmilchbehandlung. (Molkerei-Zeit. Bd. 52. 1938. S. 1653—1656.)

Die Durchschnittsergebnisse von Untersuchungen über Nachinfektion in etwa 20 Betrieben zeigten, daß starke Wiederinfektion bedingt wird: in 48% der Fälle durch Versandkannen (bei Flaschen vermutlich ähnlich), in 36% durch den Kühler und in 16% durch den Sammelbehälter.

Diese, auch in sauber geführten Betrieben, häufige starke Keimvermehrung geht auf eine nicht genügende Reinigung zurück. Es sollten daher Kühlrohre und Verteilerrinne am Kühler nach der Reinigung und Desinfektion sofort getrocknet werden, am besten durch starkes Dämpfen. Eine Verbesserung in der Konstruktion der Verteilerrinne wäre erstrebenswert, und auf Länge, Linienführung und Größe der Rohrleitungen sowie auf die Infektionsgefahr durch Behälter und Transportgefäße ist besonders zu achten. Eine verstärkte Kontrolle der Flaschenmilch-Anlagen wird empfohlen.

Der Coli-Nachweis gestattet dem Praktiker, die Wirksamkeit seines Reinigungsverfahrens zu kontrollieren. Eine starke Qualitätsverminderung kann auch auf die Berührung der Milch mit Kupfer zurückgehen, noch

häufiger und weit gefährlicher ist aber die Bildung galvanischer Elemente durch die Verwendung verschiedener Metalle.

Janoschek (Weihenstephan).

McAuliffe, H. D., and Farrell, M. A., Dye concentration in culture media employed for the analysis of Escherichia-Aerobacter members in milk. (Amer. Journ. Publ. Health. Vol. 28. 1938. p. 1217—1221.)

Nach Verff. wird durch Hinzufügung von 1 ccm Milch zu Fuchsin-Laktose-Bouillon oder 2proz. Brillantgrün-Laktose-Galle-Bouillon eine beträchtliche Menge des anwesenden Farbstoffes adsorbiert, wodurch die elektive Wirkung dieser Medien gegenüber der Escherichia-Aerobacter-Gruppe vermindert wird. Um diese elektive Fähigkeit zu bewahren, ist es erforderlich, den Gehalt an Brillantgrün in 2proz. Brillantgrün-Laktose-Galle-Bouillon nahezu 2,5mal zu erhöhen. *E. Günther (Weihenstephan).*

Miller, W. T., and Johnson, H. W., The relation of streptococci to physical changes occurring in the udders of dairy cows. (Amer. Journ. Publ. Health. Vol. 28. 1938. p. 1222—1230.)

Nach Verff. kommt dem Streptococcus agalactiae bei Mastitis die hauptsächlichste Bedeutung zu. Es wurde die physische Beschaffenheit des Euters von infizierten und nicht-infizierten Kühen in einigen Herden, die mit Mastitis verseucht, und anderen, die frei von Mastitis waren, verglichen. Milchproben aus 9 Herden wurden bakteriologisch auf Streptokokken untersucht, wobei sich 5 Herden als verseucht und die restlichen 4 Herden frei von Galt-Streptokokken erwiesen. Durch Palpation der Euter wurde eine Einstufung in 4 Klassen vorgenommen, entsprechend der Stärke der Veränderungen am Euter. Abschließend wurden in einer verseuchten Herde infizierte Kühe mit solchen Kühen verglichen, bei denen Galt-Streptokokken nicht gefunden worden waren. Die Klassifikation der Euter wurde nach den gleichen Gesichtspunkten vorgenommen wie bei der vorgenannten Palpation. *E. Günther (Weihenstephan).*

Seelemann, M. und Siemonsen, K., Versuche über die „Immunbehandlung" des gelben Galtes mit Mastitis. (Arch. Tierheilkde. Bd. 74. 1938. S. 41—54.)

Verff. berichten zunächst über die Ergebnisse anderer Versuchsansteller, die sich teils für, teils gegen das Präparat „Mastitex" aussprechen. Die eigenen Versuche der Verff. wurden im Versuchsstall des Instituts an 20 Kühen und später in 3 auswärtigen Beständen mit insgesamt 16 Kühen durchgeführt. Zur Anwendung gelangten mehrere vom Bakteriologischen und Seruminstitut Dr. Schreiber, G. m. b. H., Landsberg/Warthe hergestellte Präparate: 1. Mastitex (ohne besondere Bezeichnung), 2. Mastitex S, 3. Mastitex forte, 4. Mastitex konzentriert und 5. Mastitex (Nr. 43, Handelspackung 1938). Auch in den Versuchen der Verff. wurde eine wechselnde Wirkung mit den genannten Präparaten erzielt. Die abtötende Wirkung auf Galt-Streptokokken in der Milchdrüse war nicht befriedigend. Einige von den Verff. durchgeführte Gegenversuche mit Entozon und Trypaflavin zeigten eine bessere und günstigere Wirkung. Verff. kommen daher zu dem Schluß, daß das Präparat in der vorliegenden Form noch nicht reif für den Handel ist und die In-Verkehr-Gabe zum mindesten verfrüht sein dürfte, so daß die

Mastitex-Behandlung zur Zeit zum Zwecke der Galtbehandlung nicht empfohlen werden kann. Nebenbei wird noch bemerkt, daß der Preis für das Präparat zu hoch ist, wodurch die Verwendung auch erschwert werden könnte.

E. Günther (Weihenstephan).

Schneck, A. und **Dörwald, W.**, Über die Qualitätsänderung von Butter aus Milch von Ställen mit mastitiskranken Kühen. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 676—683.)

Zunächst wird die Verteilung der Mastitis-Keime (Streptokokken) bei der Entrahmung und beim Verbuttern untersucht. Keimzählungen ergeben, daß die meisten Mastitis-Keime in den Zentrifugenschlamm gehen. Die Vermehrung der Streptokokken in Rahm ist langsamer als in Milch, in Butter nimmt die Keimzahl konstant ab. Dieses wird durch einen erhöhten Gehalt an Diazetyl bedingt, der zugleich der Butter einen strengeren Geschmack verleiht; 0,01% Diazetyl wurde von keinem der daraufhin geprüften Mikroben (Mucor mucedo, B. proteus, B. fluorescens, Sporenbildner) vertragen.

Außer vom bakteriologisch-hygienischen Standpunkt aus konnte eine Qualitätsverschlechterung der Butter aus noch nicht veränderter „Mastitis-Milch" nicht festgestellt werden. *Reyer (Karlsruhe).*

Schulz, M., Cramer, G. und **Digeser, A.**, Verwertung des Milchzuckers der Molke durch Züchtung von Gärungsorganismen. (Vorratspflege u. Lebensmittelforschung. Bd. 1. 1938. S. 530—539.)

In sämtlichen Restmilchprodukten (Molke, eingedickte Molke, Buttermilch) lassen sich Kefirpilze zur Vermehrung bringen. Durch entsprechend hohe Einsaatmengen wird der Milchzucker in 4—24 Std. vergoren, durch noch größere Einsaat Milch und Restmilch in 2—4 Std. auf 45—60 Säuregrad angesäuert. Die günstigste Entwicklungstemperatur beträgt 20°; der Kefir vermehrt sich, je nach der Einsaatmenge, um 5—85%. Die günstigste Ausbeute erhielten Verff. in mit Ammoniak neutralisierter Quargmolke. Die wirtschaftliche Ausnutzung der Untersuchungsergebnisse ist möglich. Darüber (Verwertung des Kefirs für Ernährungszwecke, Herstellungsverfahren) soll später berichtet werden. *Reyer (Karlsruhe).*

Kiermeier, F., Heiß, R. und **Täufel, K.**, Untersuchungen über die Haltbarkeit von Butter bei Gefriertemperaturen. (Molkerei-Zeit. Hildesheim. Bd. 52. 1938. S. 2697—2699 und 2738—2743.)

Verschiedene Butterproben in 2-kg-Paketen und 50-kg-Fässern wurden bei —5, —8,5, —15 und —21° bis zu 315 Tagen gelagert und auf Veränderungen während und nach der Lagerung untersucht. Die bakteriologischen Feststellungen erstreckten sich lediglich auf die Erfassung der Gesamtkeimzahl (auf Kaseinagar = Fremdkeime) und ergaben ein Ansteigen des Keimgehaltes während der 10 Tage langen Nachlagerung bei 10° auf das 10—100fache, in einem Falle sogar auf das 10 000fache. Die Arbeit befaßt sich vor allem aber mit den chemisch-physikalischen Untersuchungsmethoden. Ein gewisser Zusammenhang konnte nachgewiesen werden zwischen: 1. Peroxydasegehalt und „Verderbnisbereitschaft", 2. Kupfergehalt und Haltbarkeit im Gefrierlager und 3. Lagertemperatur und

Dauer der Haltbarkeit. Nach der Lagerung konnte ein Ansteigen im Säuregrad und eine kurz vorübergehende Geschmacksverbesserung vor dem „Umfallen der Butter" festgestellt werden. Die Kennzahlen der Fette und selbst die heute bekannten Verdorbenheitsreaktionen ließen keine für die Praxis verwertbaren Beziehungen zum Geschmackswert erkennen. Dasselbe gilt für Katalasegehalt, Kreisreaktion, Aldehydgehalt, Methylketongehalt und die Viskosität. Verff. schlagen vor, die zur Lagerung bestimmte Butter sofort nach der Herstellung, also schon in der Molkerei, auf —15° zu kühlen, besonders mit Rücksicht auf die starke Unterkühlungsfähigkeit des Butterfettes und die in diesem Stadium noch beachtliche Bakterientätigkeit. *Janoschek (Weihenstephan).*

Mikrobiologie des Düngers, Bodens, Wassers und Abwassers.

Burk, D., and Horner, C. K., The role of traces of molybdenum in the physiology and agrobiology of Azotobacter. (Soil Sci. Soc. of America Proc. Vol. 1. 1937. p. 213—214.)

Verff. bestätigen die Untersuchungsergebnisse des Ref. bezüglich der großen Bedeutung des Molybdäns für die biologische Stickstoffbindung und die Bodenfruchtbarkeit. Wenn genügend Molybdän zur Verfügung steht, vermag sich Azotobakter mit elementarem Stickstoff der Luft ebensogut oder besser zu entwickeln, als wenn ihm statt dessen Stickstoff in gebundener Form geboten würde. Untersuchungen über die Stickstoffbindung, über den Azotobaktergehalt verschiedener Böden u. a. m. sollten künftig nur ausgeführt werden unter gebührender Berücksichtigung der hervorragenden Rolle des Molybdäns. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Guittonneau, G., et Chevalier, R., Sur l'attaque des noyaux benzéniques et l'utilisation alimentaire du phénol par les Azotobacter du sol. (Compt. rend. des séances de l'Acad. des Sci. T. 206. 1938. p. 863.)

In Erweiterung der Studien über die Brauchbarkeit verschiedenster Verbindungen als Kohlenstoffquelle für Azotobakter wurde festgestellt, daß in der Erde auch Formen dieses Bakteriums leben, die imstande sind, den Benzolring anzugreifen. Wenn der verwendete Kieselgelnährboden etwa 0,05% Phenol enthielt, entwickelten sich auf ihm Azotobakterkolonien, die bei höheren Phenolkonzentrationen von etwa 0,25% aufwärts ausblieben. Die mit Phenol als einziger C-Quelle wachsende Azotobakterform ist seltener als die anderen, die wohl zum Teil Benzolringe mit Seitenketten verwerten können, nicht aber den Ring selbst angreifen. Einer der 10 isolierten Stämme, die sich morphologisch nicht wesentlich von den üblichen Azotobakterformen unterscheiden, war in der Lage, in 0,05 proz. Phenolnährlösung 9—11 mg N auf 1 g verbrauchten Phenols zu binden. *Bortels (Berlin Dahlem).*

Bond, G., Excretion of Nitrogenous Substances from Leguminous Root Nodules: Observations on Soya Bean. (Ann. Bot. N. S. Vol. 2. 1938. p. 61—74.)

Wie die erst 1936 erschienene Übersicht von Nicol über die Arbeiten, die sich mit der N-Abgabe durch Knöllchenbakterien an den Boden und die evtl. Aufnahme dieses N durch höhere Pflanzen befassen, zeigt, ist diese Frage noch immer ungeklärt. Verf. setzte daher erneut Sandkulturversuche

mit Sojabohnen — Sorte Manchu — an, die mit 3 verschiedenen Stämmen von Bact. radicicola beimpft wurden. Ein Teil der Pflanzen wurde mit Gerste aufgezogen. Im Verlaufe des mehrmonatigen Versuches konnte sowohl in den Testgefäßen wie in den Kontrollen nur eine leichte Anreicherung des Sandes an N festgestellt werden. Die Entwicklung der Knöllchen war normal. Wurde Gerste beigesät, so entwickelten sich sowohl diejenigen Gerstenpflanzen, die in Gemeinschaft von Bohnen mit Knöllchenbakterien aufwuchsen, wie auch die bei Bohnen ohne Bakterien, unter deutlichen Anzeichen eines N-Hungers. Das Wachstum war bei beginnender Infloreszenzbildung gehemmt. Aus beiden Versuchsreihen geht hervor, daß in das umgebende Medium durch Knöllchenbakterien ein Abscheiden von N-Verbindungen unwahrscheinlich ist. Verf. führt hierfür zwei mögliche Gründe an: 1. es fehlen bei diesen Versuchen irgendwelche noch unbekannte Bedingungen, deren Erfüllung erst das Abscheiden von N herbeiführt; 2. eine Ausscheidung von N kommt bei der Sorte Manchu überhaupt nicht vor (wenigstens nicht bei Beimpfung mit den 3 Stämmen). Die geringe Zunahme des N-Gehaltes des Sandes in den Versuchs- wie Kontrollgefäßen führt Verf. darauf zurück, daß er einmal nicht unter absolut sterilen Kautelen gearbeitet hat wie Virtanen, dann, daß immer noch Reste von Wurzeln und zersetzter Pflanzenmasse mit in die Analyse gelangen. Ein Vergleich seiner Ergebnisse mit denjenigen von Virtanen führt ihn unter Berücksichtigung seiner anders gelagerten Versuchsbedingungen zu der Überzeugung, daß tatsächlich keine Abscheidung stattfindet. *Skallau (Berlin).*

Wilson, P. W., Symbiotic nitrogen-fixation by the leguminosae. (Botan. Review. Vol. 3. 1937. p. 365—399.)

Die Abhandlung stellt ein Sammelreferat dar, in dem alle wichtigeren Arbeiten auf dem Gebiet der Stickstoffbindung durch Leguminosen in einzelnen Abschnitten kritisch zusammengefaßt sind. So werden in diesen Abschnitten besprochen die Physiologie der Knöllchenbakterien, die Gruppenbildung und Spezifität der Wirtspflanze, die Bedeutung des Bakteriophagen, der Vorgang der Stickstoffbindung, das Enzymsystem, die Rolle verschiedener Mineralsubstanzen bei der Stickstoffbindung, zytologische Untersuchungen u. a. m. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Wilson, P. W., and Fred, E. B., Mechanism of symbiotic nitrogen fixation. II. The pO_2 function. (Proc. Nation. Acad. of Sci. Vol. 23. 1937. p. 503—508.)

Aus Vergleichsversuchen über den Einfluß verschiedener Sauerstoffdrucke auf Rotkleepflanzen, die teils geimpft mit elementarem Stickstoff und teils ungeimpft mit gebundenem Stickstoff ernährt wurden, ist für beide Fälle eine durchaus ähnliche Abhängigkeit vom Sauerstoffdruck ersichtlich, woraus geschlossen wird, daß der molekulare Sauerstoff nicht unmittelbar mit dem Stickstoffbindungsvorgang bei diesen Pflanzen verknüpft ist. Folglich müßten auch alle für die Stickstoffbindung durch Leguminosen aufgestellten Schemata, die eine Sauerstoffwirkung einschließen, verworfen werden. Sauerstoff ist jedoch insofern von mittelbarer Bedeutung, als er den Kohlehydratstoffwechsel der Wirtspflanze beeinflußt. Hierauf sollen nach Ansicht der Verff. die gegenteiligen Befunde Virtanens und v. Hausens beruhen. *Bortels (Berlin-Dahlem).*

Mikrobiologie von Holz usw.

Alberti, K., Untersuchungen über das Osmose-Holzschutzverfahren. (Holz als Roh- u. Werkstoff. Bd. 1. 1938. S. 426—432.)

Bei dem Osmosetränkverfahren werden die Imprägniersalze in stärkster Konzentration in Pastenform auf das frisch gefällte, entrindete, entbastete und geschnitzte Holz aufgetragen, wonach die behandelten Stämme in Dreieckform gestapelt und wind- und wasserdicht abgedeckt werden. Durch langsamen Konzentrationsausgleich zwischen dem Zellwasser des Holzes und der konzentrierten Salzlösung der aufgestrichenen Paste dringen die Imprägniersalze in das Holz ein. Nach 3—6 Monaten werden die Stapel zur langsamen Austrocknung allmählich freigelegt. Die Osmolit-Imprägniermittel, die in verschiedener Zusammensetzung geliefert und angewendet werden, enthalten als wirksame Bestandteile Natriumfluorid, Dinitrophenol und Arsen. Sublimat wird wegen seiner geringen Eindringungstiefe und aus rohstoffwirtschaftlichen Gründen nicht mehr verwendet.

Es wurde festgestellt, daß die Schutzmittel bei dem Osmoseverfahren tief in das Holz, selbst bei Kiefer bis in den Kern eindringen. Allerdings haben die normalen Osmolite den Nachteil, daß sie durch Wasser verhältnismäßig leicht ausgelaugt werden, während Osmolit-U bzw. Osmolit-U-Arsen im Holze kryolithartige Verbindungen bilden, die schwer löslich sind. Auf diese Tatsachen muß die Baupraxis bei der Verwendung osmotierter Hölzer Rücksicht nehmen. Orientierende Versuche über die fungizide und insektizide Wirkung osmotierter Hölzer, die allerdings keinen Anspruch auf die bei der Holzschutzmittelprüfung zu fordernde Genauigkeit erheben können, ergaben befriedigende Ergebnisse. Als Testpilze dienten dabei: Hausschwamm (Merulius domesticus), Kellerschwamm (Coniophora cerebella) und Porenhausschwamm (Poria vaporaria); als Versuchstiere: Schwarze Waldameise und Totenuhr (Anobium pertinax). Brandversuche zeigten, daß die Brandgefahr bei den behandelten Hölzern eher vermindert, zum mindesten aber nicht erhöht war. Der Vorteil des Verfahrens liegt vor allem darin, daß es, im Gegensatz zu öligen Mitteln, möglich ist, nasses Holz zu imprägnieren. Imprägnierungsversuche an lebenden Bäumen (Osmose-Grünverfahren) befinden sich noch im Anfangsstadium und lassen sich noch nicht auswerten. *H. Richter (Berlin-Dahlem).*

Schulze, B. und Theden, G., Untersuchungen über die beim „Klötzchenverfahren“ in den Kolleschalen vorhandenen Feuchtigkeitsverhältnisse. (Holz als Roh- u. Werkstoff. Bd. 1. 1938. S. 501—502.)

Für die Prüfung von Holzschutzmitteln sind die Versuchsbedingungen (Klötzchen-Verfahren) hinsichtlich der Kulturgefäße, der Abmessung und Beschaffenheit der Holzklötzchen, der Art des Nährbodens, der Versuchspilze, der Versuchsdauer und Aufbewahrung der Kolleschalen festgelegt. Um auch über die während des Versuches in den Schalen und im Holz herrschenden Feuchtigkeitsverhältnisse Klarheit zu erhalten, wurde die relative Luftfeuchtigkeit in den Kolleschalen mittels Stechhygrometer und die Feuchtigkeitsbewegung in den Klötzchen elektrometrisch gemessen. Es zeigte sich, daß in den Kolleschalen eine Luftfeuchtigkeit von 100% bis zu einer Dauer von etwa 5 Monaten herrscht. Die Feuchtigkeit der eingebauten Holzklötzchen nimmt zunächst sehr schnell, dann etwas langsamer zu und erreicht in

etwa 5 Tagen den Fasersättigungspunkt. Der Wassergehalt der Hölzer liegt um so höher, je weiter die Zersetzung durch Pilze fortgeschritten ist. Durch einen über den Fasersättigungspunkt liegenden Feuchtigkeitsgehalt, bei dem die Holzporen mit Wasser gefüllt sind, wird der Pilzangriff gehemmt oder verhindert, wobei sich die verschiedenen Pilzarten unterschiedlich verhalten.

H. Richter (Berlin-Dahlem).

Schulze, B. und Theden, G., Polarisationsmikroskopische Untersuchungen über den Abbau des Werkstoffes Holz durch holzzerstörende Pilze. (Holz als Roh- u. Werkstoff. Bd. 1. 1938. S. 548—554.)

Die Untersuchungen wurden an von Hand gefertigten Radial-, Quer- und Tangentialschnitten aus Holzklötzchen, die bestimmte Zeit dem Angriff holzzerstörender Pilze ausgesetzt waren, durchgeführt. Bei Betrachtung zwischen gekreuzten Polarisationsfiltern heben sich die Zellwände auf Grund ihres Zellulosegehaltes helleuchtend von dem dunklen Gesichtsfeld ab. Wird nun durch den Pilzangriff die Zellulose abgebaut, so verschwindet die Doppelbrechung und die fortschreitende Zerstörung wird im polarisierten Licht sichtbar, obwohl im normalen Licht noch keine nennenswerten Veränderungen durch den Pilzbefall zu erkennen sind. Es zeigte sich, daß der Pilzangriff in der Regel nicht gleichmäßig fortschreitet, sondern daß Bereiche stärksten Angriffes mit völlig unberührten Bereichen regellos abwechseln können, woraus sich die häufig auftretende Rissigkeit pilzzersetzten Holzes erklären läßt. Ferner wird je nach Holzart Früh- und Spätholz von denselben Pilzen unterschiedlich schnell angegriffen. Auch die Einwirkung verschiedener Pilze auf dieselbe Holzart ist unterschiedlich. So greift z. B. Lentinus squamosus Kiefernholz sehr gleichmäßig an (geringe Rißbildung), während Lenzites abietina bei starker örtlicher Zerstörungskraft zwischendurch ganze Zellgruppen unversehrt läßt (starke Rissigkeit).

Die Untersuchungsergebnisse stimmen mit denen der Röntgen-Interferenz-Untersuchungen überein. Das polarisationsmikroskopische Verfahren hat neben Einfachheit und Billigkeit noch den Vorteil, daß es die Betrachtung einzelner Zellen ermöglicht.

H. Richter (Berlin-Dahlem).

DIN DVM E 2176, Entwurf für eine mykologische Kurzprüfung von Holzschutzmitteln (Klötzchen-Verfahren). (Holz als Roh- u. Werkstoff. Bd. 1. 1938. S. 439—441.)

Das für die Prüfung von Holzschutzmitteln schon seit langem in Anwendung befindliche Klötzchen-Verfahren wird nunmehr in Form eines Normalblatt-Entwurfes in allen Einzelheiten einheitlich festgelegt. Als Testpilze, deren Normstämme von den botanischen Instituten der Forstlichen Hochschulen Eberswalde und Tharandt und von der Biologischen Reichsanstalt in Berlin-Dahlem bezogen werden können, sind vorgeschrieben: Für Nadelholz: Coniophora cerebella, Poria vaporaria, Lenzites abietina, Lentinus squamosus und Merulius lacrimans domesticus; für Eichenholz: Daedalea quercina und Coniophora cerebella; für Buchen und anderes Laubholz: Polystictus versicolor und Coniophora cerebella. Die Holzklötzchen, deren besondere, zu fordernde Beschaffenheit beschrieben wird, müssen 5 × 2,5 × 1,5 cm groß sein. Als Kulturgefäße dienen Kolleschalen von bestimmten, ebenfalls festgelegten Größenabmessungen. Als Nährboden ist Malzextrakt-Agar (5% Malzextrakt, 3% Agar) oder Fichten-

holzschliffpappe, die mit 8proz. Malzextraktlösung getränkt wird, zu verwenden. Die Versuche sind bei 60—70% relativer Luftfeuchtigkeit und etwa 20° C durchzuführen. Die Versuchsdauer beträgt 4 Monate. Für die Ausführung der Prüfung, für Vorbereitung, Imprägnierung, Ein- und Ausbau der Klötzchen sowie für die Auswertung der Versuche werden genaue Vorschriften gegeben. *H. Richter (Berlin-Dahlem).*

Günther, R., Die Pilze des Papiers. (Ztschr. f. Pilzkde. Bd. 17. 1938. S. 18—20 und 51—53.)

Verf. bringt unter Anführung des einschlägigen Schrifttums ein kurzes Sammelreferat über papierzerstörende und papierverfärbende Pilze, die durch sie verursachten Schäden und die Bekämpfungsmöglichkeiten.

H. Richter (Berlin-Dahlem).

Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz im allgemeinen.

Jesser, M. und **Thomae, E.**, Zur Frage der Unschädlichkeit der Schädlingsbekämpfung mit Schwefelkohlenstoff. (Chemiker-Zeitung. Bd. 63. 1939. S. 133.)

Ein besonderer Vorfall gab Veranlassung, Luftuntersuchungen in mit Schwefelkohlenstoff vergasten Räumen auf Kohlenoxydgehalt durchzuführen. Es ergab sich, daß tatsächlich Kohlenoxyd bei der Verbrennung von Schwefelkohlenstoff entsteht, aber nur in so geringen Mengen, daß unter normalen Verhältnissen nicht von einer Gefährdung von Personen gesprochen werden kann und besondere Vorsichtsmaßnahmen in dieser Richtung nicht notwendig erscheinen. Die vorgeschriebenen Vorsichtsmaßnahmen zur Abdichtung des zu entwesenden Raumes sind natürlich peinlichst einzuhalten.

Heuß (Berlin).

Martin, H., Die oviziden Eigenschaften von Teer- und Mineralölen. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 52. 1939. S. 177.)

Zur Bekämpfung von Schädlingen verwendet man in Großbritannien Mineral- und Teeröle in großem Umfang. Als wichtigste Untersuchungsobjekte zur Prüfung ihrer oviziden Eigenschaften dienen die im Eistadium überwinternden Arten der Familien Aphididae, Psyllidae, Capsidae, Geometridae und verschiedene phytophage Acarina. Nach den durchgeführten Untersuchungen steigt die ovizide Wirksamkeit der Öle mit dem Molekulargewicht, da sie durch die physikalischen Eigenschaften wie Siedefähigkeit und Viskosität bedingt ist. Der chemische Charakter des Öles bestimmt seine Giftigkeit. Gegen Eier von Aphididae und Psyllidae erhöht sich diese mit dem Gehalt an aromatischen Kohlenwasserstoffen. Diese sind unwirksam gegen Eier der roten Spinne und von geringerer Giftigkeit als gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe gegen Eier der Geometridae und Capsidae. Sind Phenole vorhanden, so verringert sich die Giftigkeit gegen Eier dieser beiden Arten. Es konnte nicht bewiesen werden, daß durch den Charakter des Emulgators, der zur Bereitung der Spritzbrühe dient, die Giftigkeit beeinflußt wird.

Heuß (Berlin).

Peters, G., Die biologisch-chemische Eignungsprüfung gasförmig wirkender Insektizide. (Ztschr. f. angew. Chemie. Bd. 52. 1939. S. 178.)

Von größter Wichtigkeit für die Wirkung eines Giftgases sind Konzentration und Einwirkungszeit ($c \times t$). Dieses Produkt ist nur sehr selten

konstant, oft wirkt sich die Erhöhung der Gaskonzentration nicht proportional aus. Bei entsprechenden Versuchen müssen zur Vermeidung von Zufälligkeitsfehlern 50—100 Insekten gleicher Art, gleichen Alters und gleicher Vorentwicklung gleichzeitig verwendet werden. Im allgemeinen ermöglicht der 50%-Wert einen zuverlässigen Vergleich, da der Grenzwert 100 proz. Abtötung nicht immer genau zu erfassen ist. Bei Beobachtungen über das ganze Gebiet von 0—100% Abtötung erhält man die bekannten S-Kurven. Gase ähnlicher Wirkungsart ergeben gleichartige, Gase verschiedener Wirkungsart ergeben ungleichartige Kurven. Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Gase auf verschiedene Insekten ergaben durchaus keine Parallelität. Jeweils ein Giftgas eignet sich offenbar besser für die Bekämpfung eines bestimmten Schädlings als ein anderes; es gibt für jede Gruppe von Schädlingen spezifisch wirksame Giftgase. Besonders ausschlaggebend für die Wirkung ist die angewandte Temperatur. Je nach dem Gift kann die Wirkung durch Wärme gefördert, durch Kälte gehemmt werden oder umgekehrt.

Heuß (Berlin).

Schädigungen der Pflanzen durch Pilze, Bakterien und filtrierbare Vira.

Puttemans, A., Reivindicação visando a denominação scientifica da doença da batateira (Phytophthora infestans) (Mont.) de By. (Rodriguesia. Bd. 2, Sondernummer. 1937. S. 341—350.)

Verf. weist nach, daß Libert am 19. August 1845 im „Journal de Liège" erstmalig die „Kartoffelkrankheit" unter dem Namen Botrytis devastatrix beschrieben hat, während die Veröffentlichung von Montagne über Botrytis infestans erst am 30. August des gleichen Jahres erschien. Nach den Gesetzen der Priorität muß die Krautfäule daher als Phytophthora devastatrix (Lib.) n. comb. bezeichnet werden. Im Verlauf seiner Ausführungen gibt der Verf. noch einige Einzelheiten über die Einführung der Kartoffel und der Kartoffelkrankheit nach Europa und diskutiert die hierüber von anderen Autoren geäußerten Auffassungen.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Puttemans, A., Relação dos fungos e bacterias na batateira (Solanum tuberosum L.). (Rodriguesia. Bd. 2, Sondernummer. 1937. S. 265—302.)

Die Arbeit umfaßt eine sehr umfangreiche Aufzählung aller Pilze und Bakterien, die als Krankheitserreger der Kartoffel bekannt sind. Eine wesentliche Ergänzung erfahren diese Angaben durch Mitteilung der Literaturnachweise für die erste Beschreibung des Parasiten, und durch Angabe der Synonyme und Vulgärnamen in deutscher, englischer, italienischer, portugiesischer und spanischer Sprache. Die Aufzählung erfolgte alphabetisch nach Gattungen, abschließend wird dann nochmals eine Übersicht, nach systematischen Gesichtspunkten geordnet, gegeben.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Krug, H. P., Fusarium como causador da murcha do algodoeiro no Brasil. (Rodriguesia. Bd. 2, Sondernummer. 1937. S. 319—321.)

Die Arbeiten über die Welke der Baumwolle wurden im Jahre 1933 in Campinos am Landwirtschaftlichen Institut des Staates S. Paulo aufgenommen. Es gelang aus kranken Pflanzen Verticillium zu isolieren, und in Infektionsversuchen wurde der Nachweis der Infektiosität des Er-

regers erbracht. Die ursprüngliche Annahme, daß Fusarium als Erreger der Welke anzusehen ist, fand keine Bestätigung. Untersuchungen, die im Jahre 1935 mit Einsendungen welkekranker Pflanzen der Versuchsstation Alagoinha im Staate Parahyba durchgeführt wurden, erbrachten dann erstmalig den Nachweis, daß Fusarium vasinfectum als Welkeerreger der Baumwolle auch in Brasilien heimisch ist.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Wiant, J. S., Investigations of the market diseases of Cantaloups and Honey Dew and Honey Ball Melons. (U. S. Dept. Agr. Techn. Bull. 573. 1937. 47 p.)

Es werden Fruchtfäulen der Melonen behandelt, wobei nach kurzem Überblick über die wirtschaftliche Bedeutung der Krankheiten eine ausführliche Beschreibung des Krankheitsbildes und Angaben von Verhütungsmaßnahmen folgen. Zur Veranschaulichung der Krankheitssymptome dienen zahlreiche gute Abbildungen. Mit den meisten Erregern wurden Temperaturversuche zur Ermittlung des optimalen Wachstums auf Melonen und künstlichen Nährböden durchgeführt. Im einzelnen fanden folgende Krankheiten Erwähnung: Fusariosen (Fusarium semitectum Berk. et Rav., F. scirpi Lamb. et Fautr. in verschiedenen Varietäten und einige andere Arten) verursachen in der Hauptsache Stengelgrundfäulen. Eine Weichfäule entsteht durch einige Arten von Rhizopus. Dunkelgefärbte Faulstellen rufen Alternaria tenuis Nees, A. brassicae microspora (Berk.) Sacc. u. a. hervor. Cladosporium cucumerinum Ell. et Arth. erzeugt eine der Gurkenkrätze ähnliche Fäule. Tief eingesunkene Faulstellen entstehen durch Phytophthora cactorum (Cohn et Leb.) Schroet. Eine als „Charcoal rot“ bezeichnete Fruchtfäule, bei der die Frucht völlig schwarz wird, hat Rhizoctonia bataticola (Taub.) Butl. als Erreger. Außer diesen sind noch Diplodia natalensis Evans, Cephalothecium roseum Cda. und Colletotrichum lagenarium (Pass.) Ell. et Hals. nennenswert. Auch eine bakterielle Fäule findet, allerdings ohne Angabe des Erregers, Erwähnung.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Koehler, B., and Woodworth, C. M., Corn-seedling virescence caused by Aspergillus flavus and A. tamarii. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 811—823, 3 figs.)

Das Auftreten von jungen Maispflanzen, die keinen Farbstoff enthalten, kann erblich bedingt sein. Es kann aber auch, wie Verff. zeigen konnten, durch Infizieren des Saatgutes mit Aspergillus flavus oder A. tamarii hervorgerufen werden. Verff. unterscheiden daher zwischen „genetic virescence“ und „induced virescence“. Die Erscheinung kann durch ungünstige Lichtverhältnisse und niedrige Temperaturen begünstigt werden. Ebenso spielen die Bodenverhältnisse eine Rolle. Die verschiedenen Maissorten erwiesen sich als anfällig. Damit die Infektion gelang, war es notwendig, die Samenschale zu verletzen. 10 Isolationen von Aspergillus flavus und 2 von A. tamarii riefen Infektionen hervor. Infektionen mit weiteren Aspergillus-Spezies und anderen untersuchten Pilzen waren erfolglos.

Winkelmann (Münster i. W.).

Ullstrup, A. J., Variability of Glomerella gossypii. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 787—798, 4 figs.)

Bei Erstisolationen von Glomerella gossypii von krankem Material zeigten sich in künstlicher Kultur Variationen. Bei den weiteren

Untersuchungen ergab sich jedoch, daß 2 Gruppen zu unterscheiden sind. Die eine hat dichtes weißes Luftmyzel, während die andere spärliches lederfarbenes hat. Schwache Virulenz wurde bei den auch in Kultur schwach wachsenden Stämmen beobachtet. Die Konidien und Hyphen erwiesen sich als einzellig. Nach Ansicht des Verf.s sind die Feststellungen hinsichtlich der Variationen und der Virulenz praktisch ohne Bedeutung.

Winkelmann (Münster i. W.).

Vloten, H. van, Het onderzoek naar de vatbaarheid van populieren voor aantasting door Dothichiza populea Sacc. et Briard. (Labor. voor Mycologie en Aardappelonderzoek Wageningen. Mededeel. 80. 1938. 18 S.)

Es wurde die Anfälligkeit verschiedener Arten und Varietäten von Populus gegen Dothichiza populea Sacc. et Briard untersucht. Die stärksten Schäden wurden an infizierten Stecklingen beobachtet. Im Frühjahr durchgeführte Infektionen hatten bessere Ergebnisse als solche im Sommer. Durch alle Faktoren, die die Lebensbedingungen der Bäume verschlechterten, wurde die Anfälligkeit erhöht. Sämtliche geprüften Arten und Varietäten erwiesen sich als anfällig, aber Prozentsatz und Stärke des Befalls waren verschieden. Am widerstandsfähigsten verhielten sich Populus Freemontii Watson, P. brabantica Houtz., P. marilandica Bosc., P. Eugenii Sim. Louis, P. regenerata Henry. und P. serotina Hartig var. erecta (Selys) Henry.

Schultz (Berlin-Dahlem).

Ponomareff, N. V., The conidial stage of Hypoxylon pruinatum. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 515—518, 2 figs.)

Das Konidienstadium von Hypoxylon pruinatum war bisher nicht bekannt. Verf. fand es an Infektionsstellen an Populus tremuloides, die im Juni gemacht waren, im Oktober. Außerdem wurde das Konidienstadium an 3 Jahre alten Krebsstellen beobachtet. Die Konidien und Konidienträger werden eingehend beschrieben.

Winkelmann (Münster i. W.).

Buchanan, T. S., Annual growth rate of Cronartium ribicola cankers on branches of Pinus monticola in northern Idaho. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 634—641, 1 fig.)

Verf. führte von 1933—1937 an Pinus monticola Messungen durch, um festzustellen, welchen Zuwachs der durch Cronartium ribicola hervorgerufene Krebs jährlich erfährt. Die Messungen wurden an 103 Bäumen an 6 Standorten vorgenommen. Die Untersuchungen ergaben, daß der jährliche Zuwachs sehr stark variiert.

Winkelmann (Münster i. W.).

Pierson, R. K., and Buchanan, T. S., Susceptibility of needles of different ages on Pinus monticola seedlings to Cronartium ribicola infection. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 833—839.)

Infektionen an 5—7jährigen getopften Sämlingen von Pinus monticola mit Cronartium ribicola von Ribes petiolare ergaben, daß die Nadeln desselben Jahres verhältnismäßig schwach, die der beiden vorhergehenden Jahre stark befallen wurden, die des 4. Jahres lagen hinsichtlich des Befalls zwischen denen des 1. und denen des 2. und 3. Jahres.

Winkelmann (Münster i. W.).

Jump, J. A., A study of forking in red pine. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 798—811, 4 figs.)

Verf. beobachtete an verschiedenen Stellen eine anormale Gabelung bei Pinus resinosa. Diese wird dadurch eingeleitet, daß Seitenknospen im Juni—Juli in die Länge wachsen. An den Gabelungen entstehen Spalte, durch die holzzerstörende Pilze, z. B. Tympanis sp., eindringen. Eine Abhängigkeit der Gabelungen von dem Standort konnte nicht ermittelt werden. Dematium pullulans konnte in anormalen Knospen und auch im Holz von Bäumen, die Gabelungen zeigten, gefunden werden. Verf. spricht die Vermutung aus, daß die Gabelungen durch Phytohormone, die in D. pullulans vorhanden sind, hervorgerufen werden.

Winkelmann (Münster i. W.).

Houten, J. G. ten, Kiemplantenziekten van Coniferen. [Keimpflanzenkrankheiten von Coniferen.] Dissert. Utrecht 1939. 119 S.

Es wird ein Überblick gegeben über die durch Pilzparasiten verursachten Krankheitserscheinungen, wie sie in den ersten Monaten nach der Keimung der Saat auftreten können. Die am meisten vorkommenden Krankheiten sind: die Umfallkrankheit, der Keimverlust oder frühe Wurzelbrand, die sog. „Topnecrose" und der späte Wurzelbrand. Von Beeten mehrerer Saatzuchtanstalten sowie von eigenen Saatbeeten wurde eine ganze Reihe von Pilzen aus umgefallenen Keimpflänzchen isoliert und bestimmt. Mittels Infektionsversuchs, sowohl in Glasröhrchen wie in Gefäßen mit sterilisierter Erde, wurde festgestellt, welche von diesen Pilzen als parasitär betrachtet werden müssen. Dabei stellte sich heraus, daß folgende Pilze zu den schlimmsten Parasiten zählen: Rhizoctonia solani K., Pythium de Baryanum Hesse, P. intermedium de Bary, Fusarium oxysporum Schl., F. solani (Mart.) App. et Wr., F. scirpi Lamb. et Fautr., F. orthoceras App. et Wr., Cylindrocarpon didymum (Hart.) Wr., C. radicicola Wr., Coniothyrium pityophilum (v. Höhn) Petr. et Syd., Naemosphaera rostellata (Grove) Sacc., Botrytis cinerea Pers. und Botryodiplodia theobromae Pat. An zweiter Stelle kommen: Pythium torulosum Coker et Patt., Gliocladium penicillioides Corda, Leptothyrium spec., Phoma dunorum nov. spec. (Beschreibung beigegeben), Pleospora herbarum (Pers.) Rabenh., Alternaria tenuis Nees, Stemphylium asperulum Sacc. und Trichoderma lignorum (Tode) Harz. Die Symptome, welche diese Pilze an Keimlingen hervorrufen, werden ausführlich beschrieben. Bei der Heranzüchtung der Versuchspilze auf künstlichen Nährböden zwecks Verwendung bei den Versuchen mit sterilisierter Erde ergab sich der große Einfluß derselben auf die parasitäre Tätigkeit dieser Pilze. Verf. glaubt, gewisse toxische Substanzen für die hierbei an den Tag getretenen Unterschiede verantwortlich machen zu können. Unterschiede im p_H verschiedener Böden übten großen Einfluß aus auf den Parasitismus einiger Pilze, z. B. Rhizoctonia solani und Pythium de Baryanum. Bei Trichoderma lignorum wurde einigen Pilzen gegenüber, u. a. Fusarium oxysporum und Rhizoctonia solani eine gewisse antagonistische Wirkung festgestellt. Was die Saatzeit anbetrifft, konnte festgestellt werden, daß diese für österreichische Kiefer in die Monate März—April fällt. Für die Behandlung der Saatbeete hat sich eine Deckung mit feinem Sand als sehr günstig erwiesen, ohne Verwendung

von Dünger. Für die Behandlung der Saat mit Fungiciden scheint Kuprooxyd gewisse Vorteile zu bieten. *van Beyma thoe Kingma (Baarn).*

Rosen, H. R., and Weetman, L. M., The 1938 crown-rust epidemic of oats in Arkansas in relation to hybrids of Bond and Victoria. (Phytopathology. Vol. 28. 1938. p. 898—901, 1 figs.)

Die neue von Moore, Downie und Murphy beschriebene Form 45 von Puccinia coronata wurde von den Verff. aus 153 Proben 23mal in zwei Isolationen, 41mal in einer Isolation gefunden. Gewächshausversuche ergaben, daß die Form 45 anscheinend aggressiver als die Form 1 war. In Feldversuchen wurden Hybriden der Sorte Victoria stark befallen, dagegen erwiesen sich Hybriden der Sorte Bond als resistent.

Winkelmann (Münster i. W.).

Gaßner, G., Untersuchungen über Keimgeschwindigkeit und Infektionsvermögen verschiedener Stämme von Tilletia foetens und Tilletia tritici. (Phytopath. Ztschr. Bd. 11. 1938. S. 489—516.)

Verf. hat die Keimfähigkeit von Brandsporen untersucht, die verschiedenen Brandkörnern, teils derselben Weizenähre, teils verschiedenen Ähren, immer aber derselben Brandherkunft entstammten. Dabei hat er im ersten Fall im allgemeinen gleiches Keimverhalten beobachtet, im zweiten dagegen erhebliche Unterschiede der Keimgeschwindigkeit. Daraus leitet er die Berechtigung ab, die Sporen einer Brandähre als „Brandstamm" zu bezeichnen und als physiologische Rasse anzusehen, wobei freilich die Möglichkeit besteht, daß vereinzelt auch mehr als eine Rasse in einer Brandähre vorhanden ist. Zu diesen Keimprüfungen hat er insgesamt 40 Brandstämme herangezogen, 33 von Tilletia foetens und 7 von T. tritici, die sich auf 4 verschiedene Herkünfte verteilen. Neben dem unterschiedlichen Keimverhalten wurden auch Unterschiede in der Beschaffenheit der Sporenmasse, in der Sporenfarbe, in der Art und Geschwindigkeit der Sporenverteilung auf der Nährlösung und im Keimungsbild festgestellt. Die Trennung der Brandstämme ist somit auch auf Grund dieser Merkmale möglich. Keimungsphysiologische Prüfungen von F_1- und F_2-Nachkommenschaften ergaben überwiegend übereinstimmendes Verhalten dieser mit den Ausgangsbrandähren. Feldversuche zeigten auch im Infektionsvermögen der Brandstämme gegenüber einer vulgare- und einer durum-Sorte weitgehende Unterschiede. Zwischen Keimgeschwindigkeit und Aggressivität konnten keine eindeutigen Beziehungen festgestellt werden. Daß aber erstere trotzdem offenbar nicht ohne Bedeutung ist, läßt die unterschiedliche Aggressivität von langsam und schnell keimenden Brandstämmen auf den beiden Weizensorten vermuten, die in ihrer Keimgeschwindigkeit beträchtlich voneinander abwichen. Auf der schnell keimenden Sorte waren meist die schnell keimenden Brandstämme aggressiver, auf der langsam keimenden Sorte die langsam keimenden Brandstämme. *Braun (Berlin-Dahlem).*

Pacca, D. W., Contribuição ao estudo das doenças da mandioca. (Rodriguesia. Bd. 3. 1937. S. 171—178.)

Es werden eine Bakteriose des Manioks (Bacillus manihotus Arthaud et Berthet), der Maniokrost (Uromyces manihoti Henn.) und 2 Blattfleckenkrankheiten behandelt, die durch Helminthosporium manihotis n. s. und Cercospora caribaea Ciferri (= Ragnhildiana manihotis Stev. et Solh.) hervorgerufen werden. Symptomatologie, Ätiologie, geographische Verbreitung, wirtschaftliche Bedeutung und Bekämpfungsmöglichkeiten werden näher behandelt. Eine Reihe guter Abbildungen veranschaulichen die typischen Krankheitssymptome.

M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).

Thung, T. H., Smetstof en Plantencel bij enkele Virusziekten van de Tabaksplant. IV. [Impfstoff und Pflanzenzelle bei einigen Viruskrankheiten der Tabakpflanze. IV.] (Tijdschr. o. Plantenz. 1938. S. 225—243, m. 4 Taf.)

Bei den Viruskrankheiten unterscheidet man sowohl solche, die sich schnell über alle Pflanzenteile ausbreiten (in den Vereinigten Staaten daher „systemic invasion“ genannt), und solche, die nur örtlich aus den Pflanzen isoliert werden können („non-systemic“).

Verf. beschreibt zwei neue Viruskrankheiten, welche als eine Übergangsgruppe von den „non-systemic“ zu den „systemic“-Krankheiten aufgefaßt werden können und von ihm Mosaik VI b und VI c genannt werden. Zu dieser Gruppe muß auch die von Jochems 1928 entdeckte Rotterdam B-Krankheit gerechnet werden. Den 3 genannten Krankheiten gemeinsam ist das langsame Vordringen der Krankheitserscheinungen zum Gipfel der Pflanzen nach der Infektion (7—10 Tage), im Gegensatz zum gewöhnlichen Mosaik, wo die erforderliche Zeit nur 4 Tage beträgt.

Verf. bespricht dann ausführlich das Verhältnis der neuen Viruskrankheiten und der Rotterdam B-Krankheit zu den übrigen Viruskrankheiten der Tabakpflanzen. Er kommt zu dem Schluß, daß es infektiöse Substanzen gibt, welche sowohl langsam zunehmen, wie sich langsam ausbreiten, wodurch sie die Blattanlagen zu spät erreichen, falls zu gleicher Zeit ein schnelleres Virus anwesend ist. Die Infektions-„Kraft“ sei deshalb unabhängig von der Ausbreitungsgeschwindigkeit. Es bestehe weiter die Möglichkeit, daß infektiöse Substanzen Verbindungen miteinander eingehen können.

van Beyma thoe Kingma (Baarn).

Phanerogame Parasiten, Unkräuter usw.

Krasulin, W. P., Die Wirkung hoher Temperaturen auf die Keimfähigkeit der Samen von Cuscuta epilinum. (Lein u. Hanf. Nr. 2. 1938. S. 16—19.) [Russisch.]

Die trockene Erhitzung der Samen von Cuscuta epilinum mit einer Keimfähigkeit von 98% auf 60° vermochte die letztere nicht herabzusetzen, die Erhitzung auf 80° im Laufe von 20 Min. setzte diese nur um 50% herab und erst die Erhitzung auf 100—150° tötete die Unkrautsamen vollkommen ab. Die Anwendung von heißem Wasser (70—80° bei einer Wirkungsdauer von 5—10 Min.) erwies sich als viel wirkungsvoller. Am vollständigsten war aber die Wirkung des Dampfes unter Druck (Kammerverfahren). Bei der letztgenannten Methode hat man auch insofern Vorteile, als der Dampf die Gewebe der Packung (Säcke) nicht schädigt. Die Anwendung von Chlorpikrin (50 ccm/1 mm bei einer Wirkung von 20 Std.) blieb ohne Erfolg.

M. Gordienko (Berlin).

Tierische Schädlinge.

Haupt, W., Versuche zum Studium des Kartoffelkäfers. (Forschungsdienst. Bd. 5. 1938. S. 341—343.)

In Ostpreußen und Baden wird an allen Kartoffelsorten deren Eignung für den Anbau in Gebieten mit Kartoffelkäferbefall geprüft. Außerdem wurden 18 Sorten künstlich nach dem Vorbild der Kartoffelkäferschädigung verstümmelt, um Regenerationsfähigkeit und Ertragsmöglichkeit zu erproben.

Um Vergleiche mit den durch Käferbefall geschädigten Pflanzen zu haben, wurden die Versuche mit deutschen Sorten in Busseau sur Creuse herangezogen. Die früh gesäten Sorten waren bereits Mitte Juli vollkommen zerstört, so daß bei einem frühen Auftreten des Käfers nur noch mit einem Ausbringen von höchstens 5% der normalen Ernte gerechnet werden kann. Die spät gepflanzten Sorten zeigten jedoch nur schwachen Befall durch die erste Käfergeneration. Wahrscheinlich liefern sie ungefähre Normalernte, da einmal die Pflanzen die Knollen schon angesetzt haben und dann der Schädling (Larve wie Käfer) das ältere Laub nicht so gerne annimmt.

Skallau (Berlin).

Hartzell, A., Bionomics of the plum and peach leafhopper, Macropsis trimaculata. (Contrib. Boyce Thomps. Inst. Vol. 9. 1937. p. 121—136.)

Infolge seiner versteckten Lebensweise ist dieses schädliche Insekt von den Systematikern stiefmütterlich behandelt worden, so daß, abgesehen von einer alten Beschreibung, keine moderne Lebensgeschichte vorliegt. Bislang ist es nur in USA. mit Sicherheit beobachtet worden, die Verbreitungsgebiete umfassen im N Ontario, Quebec, Canada, Maine, New York, Pennsylvania usw. bis nach Colorado im W gehend. Auch in südlicheren Provinzen ist sein Vorkommen sichergestellt. Als hauptsächliche Wirtspflanze kommt Prunus americana in Betracht, daneben noch P. angustifolia, P. monsuniana, P. pissardi, Arten wie P. salicina und simonii werden bevorzugt, auch P. domestica wird nicht verschmäht. Haben die Insekten die Wahl zwischen wilder Pflaume und Pfirsich, so wählen etwa 60% diesen, jedoch ist die Sterblichkeit der Nymphen hier größer. Nur einmal im Jahre findet Eiablage statt, die Eier überwintern vom Juli bis Mitte Mai unter der Rinde, die kräftigen rotbraunen Nymphen schlüpfen im Juni, die erwachsenen Tiere kriechen im Juli aus. Das Nymphenstadium ist sehr temperaturabhängig, innerhalb der Versuchstemperaturen von 5—25° C dauerte es 21—74 Tage. Merkwürdigerweise findet man die Imagines selten auf dem Laubwerk, häufig dagegen auf Zweigen, wie überhaupt in vielem die Lebensäußerungen der Tiere den Baumzikaden ähneln. Sie fliegen bzw. bewegen sich nur träge. Tritt Macropsis trimaculata in größeren Mengen auf, so kann sie durch Übertragung verschiedener Gelbkrankheiten großen Schaden anrichten. Natürliche Feinde scheint sie kaum zu haben. Verf. bemerkte gelegentlich eine Spinnenart, die sich von den Nymphen nährte. *Skallau (Berlin).*

Woodworth, Ch. E., The reactions of Wireworms to Arsenicals. (Journ. Agric. Res. Vol. 57. No. 3. 1938. p. 229—238.)

In einer Reihe von Versuchen schlug die Methode, Drahtwürmer mit Arsenködern anzulocken, fehl. Durch andere Versuche wird bewiesen, daß Arsensalze in Lösungen in den Körper der Drahtwürmer einzudringen vermögen.

Drahtwürmer wurden in Metall- oder Glaskäfigen eingesperrt und auf feuchter Zellstoffunterlage, die mit Maisstärke-Kügelchen durchsetzt war, gehalten. Die Kügelchen wurden hergestellt durch Mischung von arsenhaltigen und nicht-giftigen Materialien mit Maisstärke, entweder mit oder ohne Farben. Der Nachweis für Arsen wurde nach der Gutzeit-Methode durchgeführt in einem etwas abgeänderten Apparat. Es wurde festgestellt, daß Arsene die Drahtwürmer abschrecken, nach dem Verhältnis ihrer Lös-

lichkeit mehr oder weniger. Die Mehrzahl der Drahtwürmer, welche in diesem Versuch getötet wurden, waren beschränkt auf die mehr abschreckenden Materialien. Ferner ergab sich, daß die meisten der toten Drahtwürmer kein Arsen in ihrem Darmtraktus enthielten, aber große Mengen in ihrem Blute.

In einem weiteren Versuch wurden Drahtwürmer in Arsenlösungen untergetaucht und in verschiedenen Geweben die Anwesenheit von Arsen nachgewiesen. Wässerige Lösungen von Natriumarsenit drangen in den Körper ein und führten das Arsen mit hinein. Das Arsen drang aber nicht in den Mund, das Darmende oder durch die Tracheen ein, sondern durch das Integument, welches als durchlässig befunden wurde, sowohl für Wasser, wie für die Natriumsalze des Arsens. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Huber, Gl. A., Resistance in the Red Raspberry to the Mosaic Vector Amphorophora rubi Kalt. (Journ. Agric. Res. Vol. 57. No. 8. 1938. p. 623—633.)

In den Jahren 1935, 1936 und 1937 wurden Versuche durchgeführt, um die Widerstandsfähigkeit bestimmter Varietäten und Hybriden der roten Himbeere gegen den Mosaikvirus-Überträger Amphorophora rubi Kalt. (Blattlaus) zu prüfen. Die Untersuchungen ergaben, daß die Varietäten der roten Himbeere im Westen von Washington einen verschiedenen Grad der Widerstandsfähigkeit gegen A. rubi aufweisen.

Im Gewächshaus gelang es A. rubi nicht, sich fortzupflanzen oder auf folgenden Varietäten seine Populationsdichte zu halten: Indian Summer, Lloyd George, Pyne Imperial und Pyne Royal.

Die Reproduktion war schwach und die Populationsdichte blieb gering bei folgenden Varietäten: Antwerp, Herbert, Marcy und Newburgh.

Dagegen vermehrten sich die Blattläuse reichlich bei 19 Varietäten: Cayuga, Chief, Cuthbert, June, Katherine, King, Latham, Laxton, Bountiful, Laxton Renown, Laxton Reward, Marlboro, Newman, Preußen, Ranere (St. Regis), Red Cross, Rote Riesen, Seneca, Taylor und Viking.

Auf Versuchsflächen zeigte sich an Handelspflanzen, daß A. rubi an den gleichen Varietäten, die sich auch im Gewächshaus als widerstandsfähig erwiesen hatten, nicht gedeihen konnte. So ist das Gewächshausexperiment eine einfache und schnelle Methode, um die relative Widerstandsfähigkeit von Varietäten und Hybriden der roten Himbeere gegen A. rubi zu bestimmen. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Bondar, G., Cancro dos frutos de cacao, causado por Monalonion xanthophyllum, Walk „Chupança de cacao". (Rodriguesia. Bd. 3. 1937. S. 179—186.)

Es wird ein Schädling behandelt, der die Früchte des Kakaos befällt. Er ist seit langem bekannt; seine systematische Zugehörigkeit war jedoch bisher noch ungeklärt. In der Arbeit wird nachgewiesen, daß es sich um Monalonion xanthophyllum Walk. handelt. Diese Capside lebt auf den Blättern eines Strauches, für den nur der Vulgärname „gica" genannt wird. Dort, wo dieser Strauch vorhanden ist, bleiben die Früchte benachbarter Kakaopflanzen gesund. Werden die Insekten ihrer natürlichen Nahrung beraubt, dann gehen sie auf den Kakao über. Sie legen ihre Eier in die grünen Früchte, auf deren Oberseite sich dann kleine Erhebungen bilden, womit die Benennung „Krebs" im Zusammenhang steht. Der Ent-

wicklungsverlauf des Schädlings in der Kakaofrucht und die dadurch ver ursachten Schäden werden ausführlich beschrieben. Eine direkte Bekämp fung ist bisher nicht möglich und dürfte auch nur schwer zu erreichen sein, da infolge der Entwicklung des Insektes im Fruchtinnern dieses nicht der Einwirkung von Insektiziden unterliegt. Als vorbeugende Maßnahme wi empfohlen, ein Jahr vor dem Beginn der Kakaokultur die eigentliche Näl pflanze („gica") und damit auch das Schadinsekt, zu vernichten. Auf die Art soll die nachfolgende Kakaokultur vor Schädigungen bewahrt werd können. *M. Klinkowski (Berlin-Dahlem).*

Dykstra, T. P., Experiments on the Transmission of Potato Viruses by Vectors. (Journ. Agric. Res. Vol. 57. No. 1938. p. 229—238.)

4 Spezies von Aphiden: Myzus persicae, M. solani, M. circumflexus und Macrosiphum (Illinoia) solanifoli sind unter bestimmten Bedingungen wirksame Überträger vom Kartoff virus. Ein viel höherer Prozentsatz von Übertragungen des Kartoffel-Mosa virus wurde erreicht, wenn die Aphiden dauernd in Verbindung mit de Infektionsherd und den Pflanzen, die infiziert werden sollten, standen, wenn sie unmittelbar von einer kranken auf eine gesunde Pflanze übertrag wurden. Dies traf aber nicht zu bei dem Blattrollvirus, da M. persicae M. solani und M. circumflexus hier gewöhnlich nach der letzte Methode einen großen Prozentsatz Übertragungen verursachten. Macrosiphum solanifolii gelang es nicht, auf diese Weise die Blattroll krankheit zu übertragen, obwohl gelegentlich ein hoher Prozentsatz des Blatt roll-Virus durch diese Blattlausart übertragen werden kann.

An anderen Insekten als Aphiden, die an Kartoffeln fressen, wie Epitrix subcrinata, Lygus pratensis, Empoasca filamenta, Philaenus leucoophtalmus und Nabis alternatus konnte in 3 Jahre langen Versuchen keine Übertragung des Kartoffelvirus festgestellt werden. *Gößwald (Berlin-Dahlem).*

Berichtigung.

Zu **Parker R. Beamer** and **Fred W. Tanner,** Heat Resistance Studies on Selected Yeasts in Band 100, Heft 9/13.

Es ist zu lesen:

Seite 206, 3. Zeile von unten: Fig. 4. Torula cremoris.
„ 208, 1. Zeile von oben: Table 4. Torula cremoris.
„ 210, 10. Zeile von oben: Torula cremoris.

Abgeschlossen am 8. Juni 1939.

Verantwortlich für die Schriftleitung: Oberregierungsrat Dr. C. Stapp, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 17/19. Verlag und Anzeigenannahme: Gustav Fischer, Jena. Anzeigenleiter: Hans Schulz, Jena. I. v. W. g. Pl. Nr. 2 v. 1. 6. 1937. Druck: F. Mitzlaff, Rudolstadt. Printed in Germany.

Heft 14: **Die Gärungssarcinen.** Eine Monographie von Dr. Jean Smit, Lektor d. Mikrobiologie a. d. Univers. Amsterdam. Mit 2 Kurven u. 10 Abbild. im Text und 10 Tafeln. VIII, 59 S. gr. 8° 1930 RM 9.—*

Heft 15: **Die Heterokonten-Gattung Tribonema.** Von Dr. Eva Hawlitschka. Mit 18 Abbildungen im Text. V, 36 S. gr. 8° 1932 RM 3.—

Heft 16: **Die Eisenorganismen.** Systematik und Morphologie. Von Dr. Paul Dorff. Mit 40 Abbild. im Text. III, 62 S. gr. 8° 1934 RM 3.60

Heft 17: **Experimentelle Studien über die Anpassung von Wasser- und Sumpfmoosen.** Von Elsa Zastrow, Berlin-Charlottenburg. Mit 43 Abbildungen im Text. VI, 70 S. gr. 8° 1934 RM 3.60

Heft 18: **Das Genus Cosmocladium.** Von J. Heimans, Amsterdam. Mit 8 Tafeln. III, 132 S. gr. 8° 1935 RM 11.—

Heft 19: **Über die Hydratur der Pflanzen und eine empirische Formel der Verdunstung und Transpiration.** Von Yasona Fukuda, Prof. a. d. Mandschurischen mediz. Hochschule, Mukden. Mit 21 Abbild. im Text. IV, 79 S. gr. 8° 1935 RM 6.—

Heft 20: **Studien über die durch H-Stück-Bau der Membran ausgezeichneten Gattungen Microspora, Binuclearia, Ulotrichopsis und Tribonema.** Von Dr. Lucia Wichmann aus Berlin-Friedenau. Mit 17 Abbildungen im Text, 1 Verbreitungskarte u. 8 Tafeln. V, 110 S. gr. 8° 1937 RM 12.—

Soeben erschien:

Heft 21:

Die Algenflora der Mulde

Ein Beitrag zur Biologie saprober Flüsse

Von

Dr. Heinz Schroeder

Mit 6 Abbildungen im Text und 1 Tafel

VI, 88 S. gr. 8° 1939 RM 6.—

Die Mulde gehört zu den Flüssen, die besonders stark unter dem Einfluß von Mensch und Industrie stehen. Ihr Wasser dient überall gewerblichen Zwecken sowie im Oberlauf auch der Trinkwasserversorgung. Es ist daher bei ihrer weitgehenden und wechselvollen Inanspruchnahme lehrreich, den Einfluß der häuslichen und industriellen Abwässer auf die Mikroflora und -fauna kennenzulernen, weil diese bei der biologischen Selbstreinigung der Gewässer eine große Rolle spielen; bei einer Ueberlastung mit organischen Abfällen und Giftstoffen wird diese Selbstreinigung jedoch vielfach stark gestört. Es treten dann Fäulnisprozesse ein, die eine Auslese unter den vorhandenen Organismen bewirken und anderen tierischen und pflanzlichen Abwasserorganismen Lebensmöglichkeiten bieten, deren Vorhandensein Schlüsse auf den Zustand des Wassers zuläßt. Die gerade bestehenden, zum Teil extremen Verhältnisse der Mulde und der starke Wechsel der Diatomeen-Bestände boten dem Verfasser einen besonderen Anreiz zum Studium.